

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**

**E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA**

**“CARACTERIZACIÓN HISTOPALOGICA DE  
LESIONES EN ALEVINES DE PAICHE  
(Arapaima gigas) EN UNA PISCIGRANJA DE LA  
REGIÓN UCAYALI-PERÚ”**

**TESIS**

**Para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria**

**AUTOR**

**Jose Luis Enrique García Candela**

**ASESOR**

**Nieves Sandoval Chaupe**

**Lima – Perú**

**2015**

*A mi mejor amigo Max, el cual ya no se encuentra hoy presente, pero que siempre estuvo a mi lado por 15 largos años, brindándome ese calor que un ser humano no es capaz de dar.*

*A Vicky, mi mamá, por su apoyo incondicional en todo momento, sin el cual no me encontraría en este momento escribiendo estas palabras.*

*A Rosa, mi tía, por su forma de pincelarme los diferentes caminos a seguir en la vida.*

*A Henry, mi abuelo, por ser el modelo de hombre a seguir y nunca rendirse ante nada.*

*A Zoila, mi abuela, por todas esas noches de mandarme a dormir,  
para que me levantara temprano al otro día.*

*A la Dra. Nieves Sandoval, mi asesora de tesis,  
por confiar en mí, presionarme para que todo salga bien y defenderme a capa y  
espada.*

*A la Blga. Guadalupe Contreras de la Unida de Piscicultura de IVITA – Pucallpa,  
por su gran apoyo y toda la información brindada.*

*A Julio Paredes, por su apoyo en la recolección de los especímenes.*

*A mis hermanos de la Tuna Veterinaria, porque en las buenas y las malas mis amigos  
y de mis mejores y peores momentos ellos han sido testigos.*

*A mi hermano, Pablo Londoño, por brindarme su apoyo, y ser un gran mentor en  
muchos aspectos de la vida.*

*A mi hermano, Diego Vallejos, por su apoyo en la guía de los formatos y documentos  
a enviar.*

*A Renzo, Tomas y Willy, por apoyarme muchas veces con los tramites documentarios  
de mi tesis*

*A mi amiga, Claudia Sanchez del ITP, por presionarme para que terminara mi tesis.*

*A Pilar y Sicha, por prestarme su laptop, antes de mi sustentación.*

*A Milagros, por brindarme buenas vibras a la distancia.*

*Y un especial agradecimiento a Marilia y Kamilio,  
por su amistad y el gran apoyo que me dieron el día de mi sustentación.*

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

|  |             |
|--|-------------|
| <b>DEDICATORIA</b>   | <b>ii</b>   |
| <b>AGRADECIMIENTOS</b>   | <b>iii</b>  |
| <b>RESUMEN</b>   | <b>x</b>    |
| <b>ABSTRACT</b>  | <b>xi</b>   |
| <b>LISTA DE CUADROS</b>  | <b>xii</b>  |
| <b>LISTA DE FIGURAS</b>  | <b>xiii</b> |
| <b>I. INTRODUCCIÓN</b>   | <b>1</b>    |
| <b>II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>                                  | <b>3</b>    |
| <b>2.1 Descripción del paiche (Arapaima gigas)</b>                 | <b>3</b>    |
| 2.1.1 Aspectos generales   | 3           |
| 2.1.2 Características anatómicas                                   | 4           |
| 2.1.2.1 Morfología   | 4           |
| 2.1.2.2 Sistema respiratorio                                       | 6           |
| 2.1.2.3 Sistema digestivo  | 6           |
| 2.1.2.4 Sistema renal  | 7           |
| 2.1.2.5 Sistema reproductor  | 8           |
| 2.1.3 Distribución geográfica                                      | 8           |
| 2.1.4 Hábitos alimenticios   | 8           |
| 2.1.5 Reproducción   | 9           |
| <b>2.2 Histología de los principales órganos de los teleósteos</b> | <b>10</b>   |
| 2.2.1 Piel   | 10          |
| 2.2.2 Músculo  | 11          |
| 2.2.3 Branquias  | 11          |
| 2.2.4 Hígado   | 12          |
| 2.2.5 Riñón  | 12          |
| 2.2.6 Estomago   | 13          |
| 2.2.7 Intestino  | 13          |
| <b>2.3 Sistema inmune de los peces</b>                             | <b>13</b>   |
| 2.3.1 Sistema inmune innato  | 14          |
| 2.3.1.1 Centros melanomacrófagos                                   | 14          |
| 2.3.1.2 Células Rodlet   | 14          |

|             |   |           |
|-------------|---|-----------|
| 2.3.1.3     | Tejido linfoide asociado a mucosas .....      | 15        |
| 2.3.2       | Sistema inmune adquirido .....                | 15        |
| <b>2.4</b>  | <b>Enfermedades de peces amazónicos .....</b> | <b>16</b> |
| 2.4.1       | Enfermedades de origen infeccioso .....       | 17        |
| 2.4.1.1     | Enfermedades bacterianas .....                | 17        |
| 2.4.1.1.1   | <i>Flavobacterium columnare</i> .....         | 17        |
| 2.4.1.1.2   | <i>Aeromonas hydrophila</i> .....             | 17        |
| 2.4.1.2     | Enfermedades parasitarias .....               | 19        |
| 2.4.1.2.1   | <i>Mixosporidium sp.</i> .....                | 19        |
| 2.4.1.2.2   | <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> .....     | 20        |
| 2.4.1.2.3   | Monogéneos .....                              | 21        |
| 2.4.1.3     | Enfermedades micóticas .....                  | 22        |
| 2.4.1.3.1   | <i>Microsporidium sp.</i> .....               | 22        |
| 2.4.2       | Enfermedades de origen no infeccioso .....    | 23        |
| 2.4.2.1     | Por calidad de agua .....                     | 23        |
| 2.4.2.1.1   | Amoniac .....                                 | 23        |
| 2.4.2.1.2   | Temperatura .....                             | 23        |
| 2.4.2.1.3   | Oxígeno disuelto .....                        | 24        |
| 2.4.2.1.4   | pH .....                                      | 24        |
| 2.4.2.2     | Por factores nutricionales .....              | 24        |
| <b>III.</b> | <b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>             | <b>26</b> |
| <b>3.1</b>  | <b>Materiales .....</b>                       | <b>26</b> |
| 3.1.1       | Relativos a la necropsia .....                | 26        |
| 3.1.2       | Relativos al proceso histológico .....        | 27        |
| 3.1.3       | Relativo a los equipos .....                  | 28        |
| <b>3.2</b>  | <b>Metodología .....</b>                      | <b>28</b> |
| 3.2.1       | Localización .....                            | 28        |
| 3.2.2       | Especímenes .....                             | 28        |
| 3.2.3       | Procedimientos .....                          | 29        |
| 3.2.3.1     | Necropsia .....                               | 29        |
| 3.2.3.2     | Histopatología .....                          | 29        |
| 3.2.3.2.1   | Tinción H&E .....                             | 29        |
| 3.2.3.2.2   | Tinción Gram .....                            | 29        |
| 3.2.4       | Análisis de datos .....                       | 29        |



|              |                                |           |
|--------------|--------------------------------|-----------|
| 3.2.5        | Análisis estadístico .....     | 31        |
| <b>IV.</b>   | <b>RESULTADOS</b> .....        | <b>32</b> |
| <b>V.</b>    | <b>DISCUSIÓN</b> .....         | <b>50</b> |
| <b>VI.</b>   | <b>CONCLUSIONES</b> .....      | <b>57</b> |
| <b>VII.</b>  | <b>RECOMENDACIONES</b> .....   | <b>58</b> |
| <b>VIII.</b> | <b>LITERATURA CITADA</b> ..... | <b>59</b> |
| <b>IX.</b>   | <b>APÉNDICE</b> .....          | <b>72</b> |

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar lesiones histopatológicas en algunos tejidos de alevines de paiche (*Arapaima gigas*). Se colectaron 30 peces aparentemente normales de estadio juvenil en una piscigranja de la Estación Experimental IVITA-Pucallpa, Ucayali (Perú); tomándose muestras de piel, músculo esquelético, riñón, hígado, intestino, y branquias para su estudio histopatológico. Los hallazgos histopatológicos en las branquias fueron hiperplasia de los filamentos branquiales, fusión y congestión de lamelas (30/30), respectivamente ; en la piel fueron hiperplasia de las células mucosas (30/30), necrosis del tejido epitelial (23/30), infiltrado de células inflamatorias (20/30), infiltrado de estructuras bacterianas (30/30) e incremento de las células melanóforas en degranulación (30/30); en el riñón se observó degeneración hidrópica tubular (30/30), necrosis tubular (30/30), necrosis glomerular (28/30), congestión (30/30), presencia de centro melanomacrófagos (30/30) e infiltrados de estructuras bacterianas (30/30) en todo el parénquima; en el intestino se observó desprendimiento de la mucosa intestinal (30/30) e hiperplasia de las células mucosas (15/30) ; en el músculo esquelético se observó necrosis muscular (30/30), hiperemia (30/30), merontes uninucleados y en división de *Microsporidium sp* (30/30), infiltrado de células inflamatorias (29/30) y bacterianas (30/30), necrosis muscular (30/30), separación de las fibras musculares (30/30); en el hígado encontramos presencia de necrosis (30/30), infiltración de células inflamatorias y bacterianas (30/30), congestión (30/30) y presencia de centro melanomacrófagos (15/30) en todo el parénquima. Se concluye, según el estudio, que las lesiones encontradas en los diferentes órganos de alevinos de paiche (*Arapaima gigas*), estuvieron relacionadas a una mala calidad del agua, así como a causas infecciosas asociadas a agentes bacterianos (*Aeromonas sp.*) y parasitarios (*Microsporidium sp*); y no infecciosas, sugerentes de ser de origen nutricional.

**Palabras Clave:** *Arapaima gigas*, paiche, lesiones histopatológicas,

## ABSTRACT

The aim of this study was to determine histopathological lesions in some tissues fingerlings paiche (*Arapaima gigas*). Thirty apparently normal stage juvenile fish were collected from a fish farm Experimental Station IVITA-Pucallpa, Ucayali (Peru); taking skin samples, skeletal muscle, kidney, liver, intestine and gills for histopathological study. The histopathological findings in the gills were hyperplasia of gill filaments, merger and congestion lamellae (30/30), respectively; skin were hyperplasia of mucous cells (30/30), necrosis of epithelial tissue (23/30), inflammatory cell infiltrate (20/30), infiltrate bacterial structures (30/30) and increased the melanophore cells in degranulation (30/30); in the kidney was observed: tubular hydropic degeneration (30/30), tubular necrosis (30/30), glomerular necrosis (28/30), congestion (30/30), presence of melanomacrophage center (30/30) and infiltrates bacterial structures (30/30) throughout the parenchyma; in the intestine was observed: detachment of the intestinal mucosa (30/30) and hyperplasia of mucous cells (15/30); in skeletal muscle was observed: muscular necrosis (30/30), hyperemia (30/30), meronts uninucleados and division of *Microsporidium sp* (30/30), inflammatory cell infiltrate (29/30) and bacterial (30/30), muscle necrosis (30/30), separation of the muscle fibers (30/30); found in the liver: presence of necrosis (30/30), and bacterial infiltration of inflammatory cells (30/30), congestion (30/30) and presence of melanomacrophage center (15/30) throughout the parenchyma. We conclude, the study found that the lesions found in the different organs of fingerlings paiche (*Arapaima gigas*), were related to poor water quality and infectious causes associated with bacterial pathogens (*Aeromonas sp.*) And parasitic (*Microsporidium sp*); and noninfectious, being suggestive of nutritional origin.

**Keywords:** *Arapaima gigas*, paiche, histopathological lessons.

## LISTA DE CUADROS

**Cuadro 1.** Clasificación de los tejidos según el grado y severidad por extensión de la lesión. .... **pág. 30**

- Cuadro 2.** Clasificación de la degeneración grasa de acuerdo a severidad y extensión de la lesión.....  
.....**pág. 30**
- Cuadro 3.** Frecuencia de alteraciones histológicas de la piel según tipo de trastorno y su grado de afección en el paiche (*Arapaima gigas*).....  
**pág. 33**
- Cuadro 4.** Frecuencia de alteraciones histológicas del músculo esquelético según tipo de trastorno y su grado de afección en el paiche (*Arapaima gigas*)  
**pág. 36**
- Cuadro 5.** Frecuencia de alteraciones histológicas de las branquias según tipo de trastorno y su grado de afección en el paiche (*Arapaima gigas*).....**pág. 41**
- Cuadro 6.** Frecuencia de alteraciones histológicas del hígado según tipo de trastorno y su grado de afección en el paiche (*Arapaima gigas*).....**pág. 44**
- Cuadro 7.** Frecuencia de alteraciones histológicas del riñón según tipo de trastorno y su grado de afección en el paiche (*Arapaima gigas*).....  
.....**pág. 47**
- Cuadro 8.** Frecuencia de alteraciones histológicas del intestino según tipo de trastorno y su grado de afección en el paiche (*Arapaima gigas*).....**pág. 50**

## LISTA DE FIGURAS

|                   |  |                |
|-------------------|--|----------------|
| <b>Figura 1A.</b> | Paiche adulto ( <i>Arapaima gigas</i> ).....   | <b>Pág. 5</b>  |
| <b>Figura 1B.</b> | Alevines de paiche ( <i>Arapaima gigas</i> ).....  | <b>Pág. 5</b>  |
| <b>Figura 2A.</b> | Corte histológico de piel de <i>A. gigas</i> (Tinción H&E, 400x Se observa el incremento de los melanóforos (flecha roja), infiltración de células inflamatorias (flecha azul) y necrosis epitelial (flecha verde)...  | <b>Pág. 34</b> |
| <b>Figura 2B.</b> | Corte histológico de piel de <i>A. gigas</i> (Tinción H&E, 400x). Se observa la hiperplasia de las células mucosas (flecha roja).....  | <b>Pág. 35</b> |
| <b>Figura 3A.</b> | Corte histológico de músculo de <i>A. gigas</i> (Tinción H&E, 400x). Se observa la separación de las fibras musculares (flecha roja), así como la presencia de merontes de <i>Microsporidium sp</i> (flecha azul)..... | <b>Pág. 37</b> |
| <b>Figura 3B.</b> | Corte histológico de músculo de <i>A. gigas</i> (Tinción H&E, 400x). Se observa zonas de necrosis (flecha roja), así como la infiltración de células inflamatoria (flecha azul).....                                   | <b>Pág. 38</b> |
| <b>Figura 3C.</b> | Corte histológico de músculo de <i>A. gigas</i> (Tinción H&E, Objetivo de inmersión 1000x). Se observa la presencia de merontes de <i>Microsporidium sp.</i> (flecha roja).....  | <b>Pág. 39</b> |
| <b>Figura 3D.</b> | Corte histológico de músculo de <i>A. gigas</i> (Tinción H&E, Objetivo de inmersión 1000x). Se observa la presencia de merontes de <i>Microsporidium sp.</i> (flecha roja).....  | <b>Pág. 40</b> |

- Figura 4A.** Corte histológico de branquia de *A. gigas* (Tinción H&E, 400x). Se puede apreciar la hiperplasia de los filamentos branquiales (flecha roja), así como la fusión de las lamelas (flecha azul). .....  
**Pág. 42**
- Figura 4B.** Corte histológico de branquia de *A. gigas* (Tinción H&E, 400x). Se puede apreciar la leve a moderada congestión (flecha roja). ..... **Pág. 43**
- Figura 5.** Corte histológico de hígado de *A. gigas* (Tinción H&E, 400x). Se observa zonas de congestión (flecha roja), necrosis (flecha azul) e infiltración de células inflamatorias y bacterianas (flecha verde). ..... **Pág. 45**
- Figura 6A.** Corte histológico de riñón de *A. gigas* (Tinción H&E, 400x). Se observa las zonas de degeneración hidrópica (flecha roja) y necrosis (flecha azul). .....  
**Pág. 47**
- Figura 6B.** Corte histológico de riñón de *A. gigas* (Tinción H&E, 400x). Se observa los centros melanomacrófagos infiltrados en el parénquima renal (flecha roja). ..... **Pág. 48**



## I. INTRODUCCIÓN

La pesca en la Amazonía Peruana se concentra en no más de 20 especies, no obstante su rica diversidad que se aproxima a casi 1000 especies. Esta orientación genera mayor presión de pesca sobre especies de mayor demanda en el mercado, ocasionando sobreexplotación de los recursos, a límites que hacen peligrar su propia sobrevivencia. Ésta es la situación del paiche (*Arapaima gigas*), el pez de agua dulce de mayor tamaño en la Amazonía (Padilla *et al.*, 2003).

En la búsqueda de alternativas productivas, esta especie se presenta como una buena opción para la piscicultura, y con grandes perspectivas para desarrollar el sector pesquero, debido a la calidad y rendimiento de su carne, (57%), así como por su productividad que se aproxima a las 10 toneladas por hectárea por año (Padilla *et al.*, 2003).

Con los avances en la técnica del cultivo, se puede detectar la aparición, y con mayor frecuencia, de agentes patógenos que pueden afectar el normal desarrollo de los peces cultivados, disminuyendo la producción y ocasionando pérdidas económicas (Dezon *et al.*, 2004).

El éxito en el cultivo de peces, radica en la prevención, tratamiento y control de cuadros patológicos, afortunadamente en el cultivo de peces amazónicos son poco frecuentes estos cuadros; en todo caso, guardan estrecha relación con aspectos



fundamentales como son la calidad de agua y el estado nutricional del pez (González y Heredia, 1998).

Entre las principales enfermedades que han sido reportadas en paiche, Araujo *et al.* (2009), menciona la alta prevalencia de monogéneos del género *Dawestrema sp.* y protozoarios del género *Trichodina sp.*, seguidos por *Ichthyobodo sp.* y nematodos; en su estudio realizado en un cultivo semintensivo de alevines de paiche en la amazonia central de Brasil. En este estudio también menciona, una mayor prevalencia e intensidad de *Trichodina sp.*, seguido por parásitos monogéneos en la piel de *A. gigas*, mientras que en las branquias se observa lo contrario. Matthews *et al.* (2007), reporta una alta prevalencia (100%) de parásitos monogéneos en alevines de paiche en cultivos experimentales del Centro de Investigaciones de Quistococha en Loreto.

Estudios relacionados a las alteraciones histopatológicas en paiche (*Arapaima gigas*) no han sido descritas hasta el momento en el país. En Pucallpa predominantemente, se han realizado estudios histopatológicos en la gamitana (*Colossoma macropomum*), uno de ellos evaluando las lesiones histopatológicas y realizando un aislamiento bacteriológico (Ramos, 2007).

En el presente estudio, se caracterizan las lesiones histológicas más frecuentes en las muestras de alevines de paiche de cultivo (*Arapaima gigas*).

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Descripción del paiche (*Arapaima gigas*).

#### 2.1.1 Aspectos generales

Los peces se agrupan en cuatro clases de vertebrados inferiores: Agnatha, Placodermi, Condrichthyes y Osteichthyes (Teleósteos). Los teleósteos son peces con esqueleto óseo, que en la actualidad forman la mayor parte de los animales marinos. En la actualidad, muchos de ellos han migrado a aguas dulces, y representan casi la totalidad de los peces. Hay aproximadamente 20 000 especies de teleósteos. Difieren en sus hábitos, así como en la alimentación, ya que algunos ingieren partículas vegetales microscópicas, y otros son carnívoros que se alimentan de zooplancton y otros peces (Noga, 2000).

El orden Osteoglossiformes al que pertenece *Arapaima gigas*, está integrado por un grupo de peces teleósteos que apareció en el jurásico superior, hace 165 millones de años. (Parker, 1987).

De las 20,800 especies de peces que existen en la tierra los del orden Osteoglossiformes constituyen 6 de las 409 familias, 26 de los 3867 géneros y 206 de todas las especies. (Campo, 2013).

La clasificación taxonómica del paiche, según Melfi, L. 2003, es:

Reino: *Animalia*

Phylum: *Chordata*

Subphylum: *Vertebrata*

Clase: *Actinopterygii*

Orden: *Osteoglossiformes*

Suborden: *Osteoglossoidei*

Familia: *Osteoglossidae*

Género: *Arapaima*

Especie: *Arapaima gigas*

## 2.1.2 Características anatómicas

### 2.1.2.1 Morfología

El paiche es uno de los mayores peces de agua dulce, llegando a tener hasta 3 m de longitud total y un promedio de 200 kg de peso total (Campo, 2013) (**Figura 1A**).

La cabeza del paiche es pequeña con relación al cuerpo correspondiendo aproximadamente al 10% del peso total. Posee 58 placas de diferentes tamaños, distribuidas en la superficie de la cabeza, cada una de estas placas tiene de 6 a 8 poros en su borde posterior, por donde sale por presión, una mucosidad blanquecina que los nativos de la selva la consideran como la leche con que se alimentan las pequeñas crías, ya que se les ve nadando, en cardumen, siempre cerca de la cabeza de un adulto (Rebaza *et al.*, 1999).



**Figura 1A. Paiche adulto (*Arapaima gigas*).**

Tiene cuerpo alargado con sección circular y elipsoidal, revestido de grandes y gruesas escamas cicloideas; las aletas pectorales están separadas de las ventrales, en tanto que la dorsal y anal se encuentran cerca de la aleta caudal (Guerra, 2002).

El color del paiche es negro cuando están en estado larval y de alevinos, y castaño claro, del octavo al noveno mes de edad (**Figura 1B**). La cabeza es parda y el dorso negruzco; las escamas abdominales, en la mitad posterior del cuerpo, son ribeteadas de rojo oscuro; las aletas ventrales en los adultos poseen manchas negras y amarillas, dispuestas en forma de ondas, irregulares; las aletas dorsal, anal y caudal tienen manchas claras (Lima, 1999). Durante el período de reproducción, los ejemplares machos tienen una acentuada coloración oscura en la región dorsal (Rebaza *et al.*,



1999).

**Figura 1B. Alevines de paiche (*Arapaima gigas*).**

#### 2.1.2.2 Sistema respiratorio

Anatómicamente el paiche presenta un sistema branquial que muestra un grado relativo de atrofia que las hace insuficientes para abastecer de oxígeno a la gran masa corporal (Rebaza *et al.*, 1999). La vejiga natatoria presenta numerosas trabéculas semejando un pulmón y funciona como órgano respiratorio principal. La modificación sufrida por la vejiga consiste en que las paredes internas de este órgano han desarrollado un abundante tejido vascular que contribuye a aumentar su superficie y que sirve para el intercambio de gases entre el aire y la sangre circulante por los capilares, tal como ocurre en los pulmones. La capacidad de la vejiga, es muy grande pues ocupa totalmente la parte dorsal de la cavidad abdominal, comunicándose con la parte posterior de la garganta, saliendo frente a la glotis (Hurtado, 1997).

Un paiche adulto permanece sumergido máximo 40 minutos; esto lo hace cuando es perseguido, pero normalmente sale a la superficie a tomar aire a intervalos de 10 a 15 minutos. Los paiches jóvenes realizan esta actividad con más frecuencia, habiéndose constatado que los alevinos de 2,5 cm, salen a la superficie cada 2 a 3 segundos; los de 5 cm, cada 6 a 8 segundos y los de 8 a 10 cm, aproximadamente cada minutos (Guerra, 2002).

#### 2.1.2.3 Sistema digestivo

La boca es superior, grande y oblicua, provista de muchos dientes relativamente pequeños y más o menos iguales entre sí. La lengua está bien desarrollada y tiene la notoria particularidad de poseer un hueso interno achatado y ligeramente arqueado llamado hioides, cuya longitud oscila entre 10 y 20 centímetros; está recubierta por una infinidad de pequeños conos esmaltados, muy resistentes. La boca posee dos placas óseas laterales que funcionan como verdaderos dientes, los cuales detienen a la presa, matándolas antes de la deglución. El tubo digestivo es corto, como en todos los peces carnívoros (Rebaza *et al.*, 1999).

El hígado, como sucede en los demás vertebrados, se origina en el embrión como una evaginación del intestino durante el desarrollo de éste. La porción anterior da lugar al hígado propiamente dicho, mientras que la posterior origina la vesícula biliar y sus conductos. Algunos peces holósteos y otros teleósteos tienen más de dos lóbulos hepáticos, pero solamente dos conductos hepáticos que comunican al hígado con el conducto cístico que, a su vez, va a terminar a la vesícula biliar. (Lagler *et al*, 1984).

Además del papel que juega en la digestión, el hígado también sirve como un órgano de almacenamiento de grasas y carbohidratos. Más tarde desempeña importantes funciones en la destrucción de las células de la sangre y la bioquímica sanguínea, y en otras funciones metabólicas como la producción de urea y compuestos relacionados con la excreción del nitrógeno. Los tiburones y los peces óseos difieren mucho por las cantidades relativas de ácidos grasos no saturados que contienen los aceites de sus hígados (Lagler *et al*, 1984).

#### 2.1.2.4 Sistema renal

Los sistemas excretores renales y reproductores están estrechamente relacionados en los peces. Los riñones en los peces están dispuestos en número par y en forma de estructuras longitudinales que se adosan arriba de la cavidad del cuerpo, hacia el lado ventral de la columna vertebral y la aorta dorsal, precisamente hacia el exterior del peritoneo. Son comúnmente de color café rojizo. Cada riñón drena al exterior a través de un conducto, que puede unirse caudalmente en un solo conducto o en un seno alargado. (Lagler *et al*, 1984).

Se conocen dos tipos anatómicos básicos de riñón: el pronéfrico y el mesonéfrico. En el tipo pronéfrico los embudos anteriores llevan directamente de la cavidad del cuerpo al conducto pronéfrico por medio de los túbulos pronéfricos. En el tipo mesonéfrico faltan los embudos que se abren en la cavidad del cuerpo, pero en su lugar hay ramificaciones del conducto mesonéfrico, los túbulos mesonéfricos, que tienen cada uno su extremo alargado y ciego (Lagler *et al*, 1984).

#### 2.1.2.5 Sistema reproductor

Tanto machos como hembras del paiche presentan una sola gónada desarrollada que es la del lado izquierdo. Durante el periodo de reproducción, el testículo es alargado y casi cilíndrico, adherido fuertemente al peritoneo, en toda su longitud mediante un ligamento. La parte media del testículo es más ancha y gruesa. La parte cefálica es más angosta y termina en una punta redondeada, mientras que la parte caudal es más gruesa. Un paiche macho de 1,86 m de longitud presenta, aproximadamente, un testículo de 260 mm de longitud (Fontenele, 1948).

La constitución anatómica del ovario es foliar, parecida a las hojas de un libro, soldadas por los bordes y fijos los óvulos al estroma. El ovario se localiza en los dos tercios de la cavidad abdominal; en la parte media del lado izquierdo. El peso del ovario en hembras con promedio de dos metros de longitud, varía de 495 a 1.300 g. En el estado de celo las hembras tienen el ovario color verde petróleo intenso. El número promedio de óvulos de una hembra de paiche de 1,90 m de longitud y 62 kg de peso es de 180.000, de los cuales solo el 25% presentan maduración total y están en condiciones de ser liberados para su fecundación (Fontenele, 1948).

#### 2.1.3 Distribución geográfica

El paiche se encuentra en toda la cuenca del Amazonas y también otros ríos comprendidos desde Guyana hasta Bahía en el Brasil. En el Perú se encuentra en las cuencas bajas de los ríos Napo, Putumayo, Marañón, Pastaza y Ucayali, con abundancia en la Reserva Nacional Pacaya Samiria. (Alfaro *et al.*, 1999).

#### 2.1.4 Hábitos alimenticios

De acuerdo con Rebaza *et al.* (1999) el paiche es un pez carnívoro, que se alimenta básicamente de pequeños peces en proporción de 8 a 10% de su peso vivo, cuando joven, y 6% cuando es adulto. Puede alcanzar hasta 10 kg. durante el primer año de vida.

*A. gigas* captura su presa mediante una fuerte succión con la boca, produciendo un chasquido y brusco movimiento de la cabeza, acompañado muchas veces, de un coletazo. Las formaciones óseas de la boca, indican que el paiche tritura la presa matándola antes de tragarla (Hurtado, 1997); como la gran mayoría de peces de agua dulce, procura alimentarse en el atardecer o amanecer; durante el día cuando el calor es intenso, se mete debajo de la vegetación acuática en busca de cualquier sombra para huir de los fuertes rayos solares, manteniéndose quieto en el fondo del agua, emergiendo algunas veces para respirar (Guerra, 2002).

Hurtado (1997), reporta los contenidos estomacales de 71 individuos capturados entre enero y diciembre de 1997 en Puerto Nariño (Amazonas). El número promedio de presas por estómago fue de 6 con un peso medio de 36,8 g, y tallas entre 6 y 20 cm. Los grupos alimenticios más importantes fueron en orden de ocurrencia, los siguientes: peces (80,4% en número y 81,05% en peso) representados principalmente por carácidos, cíclidos y curimátidos; crustáceos (9,7%) material vegetal (6,06%) y otros (3,86%). El hecho de la aparición de material vegetal, en el estómago y en los opérculos puede explicarse por el hecho que *Arapaima gigas* captura sus presas por succión, arrastrando con ellas agua (que luego elimina por la abertura opercular), restos vegetales y minerales. Según el autor, el paiche es un depredador muy activo el cual busca su alimento a través de toda la columna de agua; reporta además que no existen diferencias en la composición de los contenidos estomacales entre machos y hembras (Rebaza *et al.*, 1999).

#### 2.1.5 Reproducción

El paiche se reproduce cuando tiene aproximadamente 1,60 m. Los reproductores pierden el interés por comer, la cabeza se vuelve negra, al igual que el dorso y la aleta dorsal, los flancos de las aletas, vientre y región caudal toman coloración rojiza semejante al color del achiote. El dorso negro es para camuflar las larvas y alevinos que son oscuros, cuando las crías no necesitan de esta protección tornan su dorso a castaño (Campo, 2013).

El *A. gigas* es una especie heterosexual, no presenta características sexuales externas para distinguir el macho de la hembra. La fertilización es externa. El ovario y el testículo terminan en un orificio hacia el exterior (Campo, 2013).



## **2. 2 Histología de los principales órganos de los teleósteos**

### **2.2.1 Piel**

La piel es delgada (Tyagi y Shukla, 2002). Consta de dos capas (epidermis y dermis), además de una capa hipodérmica subcutánea. Según Elliott (2000) la epidermis de los peces consta de un epitelio plano estratificado no queratinizado. El número de capas celulares puede variar de dos en las larvas hasta diez o más en los adultos. En las especies pelágicas, la epidermis es frecuentemente más gruesa en las áreas dorsales del cuerpo, mientras que las especies bentónicas la epidermis presenta mayor grosor en las superficies que cubren la parte ventral. En general la epidermis de los peces presenta diferentes tipos de células como células epiteliales entre las cuales se encuentran regularmente células mucosas, células clava de gran tamaño, células sensoriales (botones gustativos, neuromastos), fibras nerviosas (Grazzle, 1976; Ottensen y Olafsen, 1997; Elliott, 2000; Webb, 2000, Stone *et al.*, 1995). La dermis está compuesta por tejido conjuntivo denso o fibroso; posee algunas capas de células de pigmento en la parte marginal entre la epidermis y la capa subcutánea (hipodermis), las cuales dan el color a los peces, macrófagos y mastocitos (Elliott, 2000; Souza *et al.*, 2003; Le Guellec, 2004). La hipodermis separa la parte interna de la dermis del músculo subyacente (Le Guellec, 2004), es considerada como una variante del tejido conjuntivo, especializado en el almacenamiento de lípidos, cuyas células principales son los adipocitos, que se encuentran en una malla de tejido conjuntivo reticular, en el cual es posible observar capilares sanguíneos.

### 2.2.2 Musculo esquelético

La musculatura lateral es un típico ejemplo del músculo estriado en teleósteos, consistiendo en capas de fibras musculares dispuestas a ambos lados del cuerpo desde la cabeza hacia la cola. El tejido conectivo se halla dispuesto entre el tejido muscular formando mioseptos. Los peces poseen dos tipos de fibras locomotoras dispuestas en capas: Fibras rojas o lentas y fibras blancas o rápidas; también existe una capa de fibras intermedias (Altringham y Ellerby, 1999; Ellerby *et al.*, 2000; Rescan *et al.*, 2001; Kiessling *et al.*, 2006). Las fibras están compuestas de sarcoplasma, miofibrillas, núcleo y sarcolema. El núcleo está siempre ubicado al lado del sarcolema, puede haber más de un núcleo en una fibra muscular. Las fibras rojas o de contracción lenta son altamente vascularizadas, alta cantidad de mitocondrias, gotas lipídicas y reservas de glucógeno. También alta concentración de mioglobina y citocromos. A diferencia de éstas, las fibras blancas o de contracción rápida con baja cantidad de mitocondrias, gotas lipídicas, glucógeno y mioglobina; son de pobre vascularización (Hibiya *et al.*, 1982; Kiessling *et al.*, 2006).

### 2.2.3 Branquias

Están formadas en la mayoría de los teleósteos por cuatro a cinco arcos branquiales, ubicados a cada lado de la faringe, en el borde posterior de cada arco branquial se proyectan los filamentos branquiales o laminillas primarias, las cuales para aumentar la superficie respiratoria presentan laminillas secundarias dispuestas en la parte superior e inferior de cada filamento (Amlacher, 1961; Ellis, 1981).

La superficie de las branquias está cubierta con un epitelio simple plano, presentando tres tipos de células: células pavimentosas, un menor número de células del cloro, éstas últimas de forma redondeadas o poligonales, acidófilas, con numerosas mitocondrias y ubicándose en el extremo proximal de las laminillas secundarias, y células mucosas dispuestas en las laminillas y en el epitelio basal. También se describen las células

pilares, que soportan los múltiples capilares distribuidos en las laminillas secundarias (Hibiya *et al.*, 1982; Evans *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2005).

#### 2.2.4 Hígado

Histológicamente las paredes de los conductos biliares están revestidas por un epitelio cúbico simple, soportado por una capa de tejido conectivo y fibras musculares (Hibiya *et al.*, 1982; Vicentini *et al.*, 2005), se ha observado la presencia de melanomacrófagos alrededor de canalículos biliares, arterias y venas; así mismo la ausencia de células de Kupffer (Ellis *et al.*, 1981; Rocha *et al.*, 1994).

#### 2.2.5 Riñón

La porción anterior del riñón denominada cabeza, posee tejido hematopoyético, linfoide y endocrino; y la parte posterior denominada cuerpo posee tejido excretor rodeado de tejido hematopoyético y linfoide (Reimshuessel, 2001; Meyer *et al.*, 2002).

El tejido intersticial ubicado en la parte anterior y entre los túbulos de la parte posterior del riñón está compuesto por tejido hematopoyético, conteniendo glóbulos rojos en diferentes estados de mitosis, sinusoides, capilares, centros melanomacrófagos, pigmentos de hemosiderina y melanina (Hibiya *et al.*, 1982; Meyer *et al.*, 2002).

El corpúsculo renal está formado por el glomérulo y la cápsula de Bowman formada por una capa parietal de tejido epitelial plano simple y una visceral formada por células con prolongaciones llamadas podocitos, las cuales se adhieren a los capilares del glomérulo (Hibiya *et al.*, 1982). El segmento del cuello está revestido por una capa de epitelio columnar simple ciliado, el segmento proximal se divide en los segmentos I y II; el primero está revestido por epitelio columnar simple ciliado con abundantes microvellosidades, el núcleo es oval o esférico y puede estar ubicado en posición central o basal, el segundo segmento es similar al primero, diferenciándose sólo en un mayor diámetro de los túbulos, lumen estrecho y mayor cantidad de mitocondrias. El segmento distal no presenta casi microvellosidades en su epitelio, el núcleo es oval o esférico y en posición basal, estas características se mantienen en los túbulos colectores (Ellis, 1981; Hibiya *et al.*, 1982).

#### 2.2.6 Estomago

El estómago tiene la porción cardiaca, el saco ciego y la porción pilórica. El epitelio de la mucosa es simple y con pliegues, siendo un epitelio simple cuboidal en la porción cardiaca y columnar alto con los pliegues más profundos en las dos últimas porciones (Hibiya *et al.*, 1982).

La lámina propia contiene las glándulas gástricas soportadas por tejido conectivo laxo, que se abren en las criptas de los pliegues de la mucosa (Ellis *et al.*, 1981; Hibiya *et al.*, 1982).

La mucosa consta de un epitelio, lámina propia y muscular de la mucosa. Se pueden observar los estratos granular y compacto en la lámina propia. La muscular tiene la capa circular interna y la capa longitudinal externa (Hibiya *et al.*, 1982).

#### 2.2.7 Intestino

El intestino consta de mucosa, submucosa, muscular y serosa (Orvay, 1993). Histológicamente el intestino es un tubo con numerosos pliegues oblicuos que retardan el paso del alimento y aumentan el área de absorción de nutrientes. El epitelio que recubre la capa mucosa es simple cilíndrico con abundantes células caliciformes. Hacia la parte posterior hay un incremento moderado en la cantidad de células caliciformes permitiendo diferenciar las dos porciones del intestino, la anterior de la posterior (Atencio *et al.* 2003).

### 2.3 Sistema inmune de los peces

Los peces poseen un sistema inmune con muchas de las células y sustancias humorales presentes en vertebrados superiores, pero cuentan también con componentes y funciones especiales, como los centros melanomacrófagos y la capacidad fagocítica de los enterocitos por citar solo algunas de ellas, que difieren profundamente con sus similares en otras especies y que aún hoy son pobremente comprendidas. Sumado a esto, el ambiente acuático y más, el ambiente acuático productivo, es de por si complejo

de manera que las posibilidades de las interacciones biológicas son enormes y los procesos difícilmente predecibles (Penagos *et al.*, 2009).

### 2.3.1 Sistema inmune innato

La primera línea de defensa contra la infección en los peces, así como en otras especies, es el sistema inmune innato; éste incluye las barreras físicas como las superficies mucosas y la piel con un amplio rango de sustancias asociadas como el moco por citar una sola de ellas, pero también una variedad de leucocitos (monocitos /macrófagos, granulocitos y células citotóxicas no específicas) y diversas sustancias humorales (p.e. lisozima, factores del complemento, interferón, proteína C reactiva, transferrina, antiproteasas, lecitinas, eicosanoides) que inhiben indiferenciadamente el crecimiento de microorganismos infecciosos (Dalmo *et al.*, 1997; Heppell y Davis, 2000; Fernández *et al.*, 2002).

#### 2.3.1.1 Centros melanomacrófagos

Una característica particular del sistema inmune de los peces, es la presencia principalmente en el bazo, pero también en riñón, hígado, gónadas, tiroides y aun timo, de los denominados centros melanomacrófagos (CMMs) (Ferguson, 2006), éstos se asemejan a los centros germinales del bazo y nódulos linfoides de los mamíferos, están constituidos por macrófagos, células reticulares, linfocitos y células plasmáticas. Reciben ese nombre porque dentro de los macrófagos que conforman los CMMs se producen y almacenan pigmentos como la lipofuccina, la melanina y la hemosiderina entre otros (Dalmo *et al.*, 1997; Agius y Roberts, 2003; Ferguson, 2006).

#### 2.3.1.2 Células Rodlet

Son células secretorias epiteliales presentes en grandes cantidades en la piel, branquias, intestino, ductos biliares, túbulos renales y bulbo arterioso, y en menor cantidad o ausentes en sangre, tejido conectivo, cerebro y bulbo olfatorio (Reite, 2005; Ferguson, 2006; Schmachtenberg, 2007). Los peces teleósteos son los únicos vertebrados que poseen estas células. Son células ovaladas con un núcleo excéntrico,

una cápsula fibrosa subyacente a la membrana celular y filamentos citoplasmáticos con forma de flechas que apuntan hacia el ápice (Schmachtenberg, 2007).

Aunque todavía algunos autores las consideran protozoarios, investigaciones recientes en múltiples especies las incluyen en el sistema de defensa de los peces óseos (Reite, 2005). Tienen gran habilidad para migrar a los epitelios y aumentar su número principalmente en infestaciones parasitarias y procesos irritantes (Reite, 2005; Schmachtenberg, 2007).

#### 2.3.1.3 Tejido linfoide asociado a mucosas

A pesar de que en los peces no existen ganglios linfáticos, placas de Peyer, ni tejidos linfoides asociados a mucosas (GALT y MALT) ampliamente caracterizados en mamíferos y aves, hay evidencias claras de un sistema inmune innato de mucosas desde los primeros estadios de vida de los peces (Olafsen y Hansen, 1992). Sumado al bajo pH gástrico y a la acción de las enzimas digestivas, de la bilis y del moco descritos en mamíferos, el sistema inmune de mucosas en los peces incluye otra serie de propiedades defensivas como la activación y aumento en número y tamaño de las células de moco branquiales e intestinales en respuesta casi siempre a infecciones bacterianas o irritantes presentes en el agua (Lodemel *et al.*, 2001), la producción y eliminación de anticuerpos en la bilis (St. Louis-Cormier *et al.*, 1984), la migración de células productoras de anticuerpos a las mucosas branquial e intestinal (St. Louis- Cormier *et al.*, 1984; Davidson *et al.*, 1993; Lin *et al.*, 2000; Fernández *et al.*, 2002b), la existencia de poblaciones bacterianas nativas asociadas al epitelio intestinal y pilórico que interfieren con la adhesión y posiblemente con el ingreso de bacterias patógenas a los tejidos del pez (Lodemel *et al.*, 2001; Ringo *et al.*, 2001), y por último, la facultad particular por parte de los enterocitos de hacer endocitosis de partículas intactas, macromoléculas (Dalmo *et al.*, 1997), y de bacterias y sus antígenos, tanto de la flora nativa (Lodemel *et al.*, 2001; Ringo *et al.*, 2001 y 2006) como de patógenos (Olafsen y Hansen, 1992; Lodemel *et al.*, 2001) en todos los segmentos intestinales de larvas y adultos.

#### 2.3.2 Sistema inmune adquirido

La segunda línea de defensa es la inmunidad adquirida; aunque los peces no tienen médula ósea o nodos linfoides, el timo, el riñón y el bazo asumen este papel (Dalmo *et*

*al.*, 1997). La inmunidad adquirida puede ser dividida en celular y humoral, y depende en gran medida de linfocitos T y B respectivamente (Fernández *et al.*, 2002a; Ruiz *et al.*, 2003a).

Similar a como ocurre en los mamíferos, la inmunidad humoral adquirida en peces involucra el reconocimiento y unión de antígenos solubles circulantes a células B diferenciadas en células de memoria y células plasmáticas que responden para producir y secretar anticuerpos antígeno-específicos. De otro lado, la inmunidad adquirida mediada por células involucra el reconocimiento de antígenos por las células T expuestos en la superficie de las células presentadoras de antígenos en asociación con moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), que inducen la activación de linfocitos T citotóxicos (LTC, CD8+), células T ayudadoras (LTA, CD4+) secretoras de citoquinas y células supresoras (Heppell y Davis, 2000; Ruiz *et al.*, 2003a). En mamíferos, las células T CD4 y CD8 reconocen antígenos presentados por el MHC I y MHC II respectivamente, pero no es claro si esto es similar en los peces ya que no existen reactivos para identificar moléculas como CD4 y CD8 en teleósteos (Heppell y Davis, 2000; Shao, 2001; Vandenberg, 2004).

## **2.4 Enfermedades de peces amazónicos**

En la práctica piscícola, la explotación intensiva permite el manejo de altas densidades de organismos por unidad de superficie; sin embargo, este manejo favorece el que con frecuencia se rompa el equilibrio establecido entre patógenos y huéspedes, trayendo como consecuencias la aparición de enfermedades infecciosas y parasitarias que ocasionan diversos problemas, que van desde un lento crecimiento, con reducción de la tasa de fertilidad, aunque sin presentar manifestaciones patológicas, hasta la aparición de severas epizootias, caracterizados por mortalidades elevadas (Scholz, 1999).

Según Padilla *et al.* (2003) no todos los peces mueren por agentes patógenos. Factores ambientales y carenciales causan tantas o más muertes que las propias enfermedades; por lo que se requiere tomar medidas preventivas, como la referida a la buena calidad del agua, alimentos sanos, manipuleo mínimo y tratamiento oportuno de enfermedades.

## 2.4.1 Enfermedades de origen infeccioso

### 2.4.1.1 Enfermedades bacterianas

#### 2.4.1.1.1 *Flavobacterium columnare*

Todos los peces son susceptibles a alguna forma de enfermedad causada por el género *Flavobacterium sp.* Estos microorganismos son considerados ubicuos en el medio ambiente acuático, ocasionando enfermedad en peces sometidos a algún tipo de estrés (Shotts y Starliper, 1999).

Es un bacilo aerobio, gram-negativo, que mide 0.5 $\mu$  de ancho por 12 $\mu$  o más de largo, es móvil. Las colonias son pigmentadas (amarillo a naranja), variando en forma dependiendo del aislamiento y medio de crecimiento (Richards y Roberts, 1981; Shotts y Starliper, 1999).

La infección por *F. columnare* se inicia en la boca, aletas y branquias, como sitios primarios, pero pueden estar comprometidas otras partes del cuerpo. El periodo de incubación varía con la cepa, estado físico del pez o por la ruta de exposición. La enfermedad se ha reportado usualmente en cultivos con temperaturas entre 10 a 30 °C (Shotts y Starliper, 1999).

Hay un incremento del moco, las branquias presentan placas blanquecinas en la punta de los filamentos, llevando a una necrosis del epitelio, estas lesiones están rodeadas de zonas rojizas, pudiéndose volver necróticas, lo que lleva a una bacteriemia y muerte. En la piel estas lesiones se transforman en úlceras hemorrágicas, presentando un color amarillo o marrón (Richards y Roberts, 1981; Shotts y Starliper, 1999).



#### 2.4.1.1.2 *Aeromonas hydrophila*

Las *Aeromonas sp.* son bacterias ubicuas responsables de un amplio rango de enfermedades en organismos homeotérmicos y poiquilotérmicos, incluyendo a los humanos (Kozinka *et al.*, 2002). Las aeromonas móviles son una de las más importantes, destacando entre ellas la *Aeromonas hydrophila*, la cual es responsable de la septicemia hemorrágica en peces (Paniagua *et al.*, 1990).

Los brotes de la enfermedad son usualmente asociados con un cambio en las condiciones medioambientales, factores estresantes como una sobrepoblación de peces, alta temperatura, repentinos cambios de temperatura, manejo inadecuado, bajo oxígeno disuelto, estado pobre nutricional o infecciones fúngicas o por parásitos, contribuyen a cambios fisiológicos y aumentan la susceptibilidad a infecciones (Aoki, 1999).

La *Aeromona hydrophila* es un habitante normal de la microflora del tracto intestinal de peces (Cipriano *et al.*, 1984), es anaerobia facultativa, gram-negativa de forma bacilar, es móvil, mide 0.1-3µm de diámetro y 1-3.5µm de longitud, no esporula ni posee cápsula. La temperatura óptima de crecimiento es de 28°C, pero puede crecer a 37°C. Las colonias en los agares son de una coloración blanca a rosado pálido, redondas y convexas, con bordes definidos. Son positivas a las reacciones de citocromo oxidasa y catalasa (MacInnes *et al.*, 1979).

Esta bacteria es transmitida vía horizontal, está presente en el agua y sedimentos de los estanques. Puede ser transmitido por descargas intestinales, por lesiones en la piel, y favorecidas por infecciones de la epidermis ocasionadas por parásitos u hongos (Aoki, 1999).

La severidad de la enfermedad depende de diferentes factores, que incluyen la virulencia de microorganismo, el grado de resistencia genética y condición fisiológica del hospedador, así como al estrés (Cipriano *et al.*, 1984; Aoki, 1999).

La enfermedad aguda podría llevar a una septicemia, que lleve a la muerte del animal antes de que presente los signos clínicos. Generalmente no hay signos específicos, los peces afectados presentan lesiones en la piel que incluyen áreas de hemorragias y necrosis, enrojecimiento y ulceraciones en la piel, exoftalmia, abdomen distendido,

también otros órganos comúnmente afectados incluyen las branquias, riñones, hígado, bazo, páncreas y corazón (Cipriano *et al.*, 1984; Aoki, 1999; Noga, 2000).

#### 2.4.1.2 Enfermedades parasitarias

Los parásitos juegan un papel importante en la biología de los peces, pudiendo afectar su comportamiento, salud y distribución. Aunque no todas las especies de parásitos producen enfermedades, la mayoría implican una serie de cambios desfavorables en el hospedador (Rohde, 1993).

##### 2.4.1.2.1 *Mixosporidium sp*

Los mixosporidios forman un amplio grupo zoológico en el que existen más de 1250 especies descritas (Lom y Dyková, 1995). Constituyen un grupo de organismos mayoritariamente endoparásitos, raramente intracelulares, que afectan sobre todo a peces marinos y dulceacuícolas y, en menor proporción, a otros vertebrados poiquiloterms acuáticos. Además, se han señalado raramente en invertebrados (Kudo, 1920; Weidner y Overstreet, 1979; Dessler *et al.*, 1986; Canning *et al.*, 1996; Okamura *et al.*, 1996; Anderson *et al.*, 1999, Longshaw *et al.*, 1999).

Algunos mixosporidios son responsables de importantes patologías con grandes pérdidas económicas. Por ejemplo, las infecciones por varias especies del género *Kudoa sp.* son causantes, tanto en la industria de la acuicultura como en la de pesquerías, de que lotes enteros de peces deban ser desechados, debido a la licuefacción postmortem del músculo provocada por los enzimas proteolíticos del mixosporidio, así como a la presencia de quistes (Renon *et al.*, 1996; Moran *et al.*, 1999).

Los géneros *Henneguya sp.* y *Myxobolus sp.* son unos de los más importantes patógenos en peces marinos y de agua dulce (Eiras *et al.*, 2005). En Sudamérica, *Henneguya sp.* es la especie más común, con 31 especies (Barassa *et al.*, 2003).

El ciclo de vida de los *Myxosporea* toma lugar en dos hospederos, existiendo dos fases: mixospora y actinospora. En la primera se realiza la multiplicación del parásito, y se desarrolla en vertebrados menores, siendo los peces los más comunes; en la segunda envuelve un proceso sexual, y se desarrolla en invertebrados, principalmente en anélidos (Wolf y Markiw, 1984).

La actinoesporas liberadas de los anélidos, ingresan en el pez por la piel o por el epitelio branquial, las cápsulas polares descargan sus filamentos polares, fijándola al hospedero. Luego las válvulas se abren, y el esporoplasma ingresa a través de aberturas en células epidermales y del epitelio. Posteriormente, siguen las fases intracelulares o intercelulares previas a la esporogonia, para migrar luego al lugar de desarrollo de la fase de esporogonia (quiste o plasmodium), el cual contiene núcleos vegetativos, células esporogónicas y pericitos; siendo éstas dos últimas responsables de la esporogonia, dividiéndose y formando las diversas estructuras de la espora madura. El pericito en unión con las células esporogónicas son llamados panesporoblastos. Los estadios plasmodiales pueden ser formas histozoicas (ubicadas en los espacios intercelulares, vasos sanguíneos o intracelularmente) y formas celozoicas (ubicadas en cavidades orgánicas) Las mixoesporas contienen generalmente de una a cuatro cápsulas polares, uno o dos esporoplasmas y un armazón con dos a tres válvulas (Noga, 2000; Lom y Dyková, 2006). Se cree que las mixoesporas son liberadas cuando el pez muere, siendo ingeridas por invertebrados tales como los anélidos. En estos hospederos se realiza la fase sexual, el esporoplasma de la mixospora inicia una merogonia, gametogonia y esporogonia, para finalmente formar las actinoesporas (Kallert, 2005; Lom y Dyková, 2006).

#### 2.4.1.2.2 *Ichthyophthirius multifiliis*.

El *Ichthyophthirius multifiliis* es un protozoo ciliado que infecta la piel y branquias de los peces de agua dulce, causando una enfermedad de alta importancia económica conocida como “Ich” o “Enfermedad de la mancha blanca”. Alta morbilidad y mortalidad se dan en acuarios o estanques donde hay una sobrepoblación de peces (Maki *et al.*, 2001).

Es conocido como parásito oportunista o ectocomensal del tegumento y branquias (Eiras, 1993), e inclusive puede permanecer enquistado en la piel o branquias

alimentándose de las células epiteliales y sanguíneas extraídas de los capilares superficiales, provocando en el propio hospedero, un recubrimiento de la mucosa epitelial (Leibovitz, 1980). Van Duijn (1973) considera que este parásito está ampliamente distribuido en Europa y en Norteamérica, así como en los países tropicales y, consecuentemente puede soportar altas temperaturas.

Ewing *et al.* (1986), mostraron que hay tres periodos en el ciclo de vida de *I. multifiliis*: a) inmediatamente después de la invasión del hospedero genera una mortalidad del 50% de los ciliados, siendo los trofontes los más afectados y ello parece estar relacionado con la temperatura; b) después de la salida del teronte del hospedero y, c) durante la reproducción, el teronte inicia su proceso de multiplicación dando origen a los tomites que al madurar forman los terontes, listos para penetrar al hospedero e iniciar un nuevo ciclo.

Ferguson (2006) señala que infecciones intensas pueden producir espongiosis y erosión de la piel, una mayor infiltración por neutrófilos y linfocitos; una hiperplasia puede estar relacionada con una lisis severa de la epidermis y posiblemente una separación del tejido dermo epidermal. Además, considera que el parásito sigue un crecimiento dentro de la epidermis, luego emerge y si esta maduración es numerosa al mismo tiempo, consecuente ocasiona un daño a la piel que puede cargar un estrés osmótico sustancial en el pez.

#### 2.4.1.2.3 Monogéneos

Los Monogéneos, representados por gran cantidad de especies, parasitan tanto peces marinos como de agua continental, ocasionando cuantiosas pérdidas económicas en los sistemas de producción piscícola de diferentes partes del mundo (Jones, 2001; Marcogliese *et al.*, 2001). Representan un serio riesgo pues afectan a gran variedad de cíclidos, particularmente especies de tilapia de países tropicales y semitropicales, donde los parásitos se ven favorecidos por las condiciones ecológicas (Flores-Crespo *et al.*, 1995; Martins *et al.*, 2002).

Son de cuerpo aplanado, boca en forma de ventosa, en el extremo posterior presentan un órgano adhesivo que pueden presentar ganchos que se adhieren al huésped (Soulsby, 1987). Los parásitos son vivíparos u ovíparos y tienen un ciclo biológico directo, los

huevos suelen ser operculados, con filamentos en ambos polos que se adhieren a las laminillas branquiales (Flores y Flores, 2012).

Los parásitos adultos se localizan principalmente en branquias, piel, aletas, y cavidad bucal de los peces, donde ovipositan; después de la puesta, los adultos mueren y el desarrollo de los huevos se produce en el hospedero, finalmente los huevos darán origen a las formas larvarias que nadan para buscar un nuevo huésped (Soulsby, 1987; Flores y Flores, 2012).

Los signos de las enfermedades ocasionadas por los monogéneos dependen de la intensidad de la infección. En casos de una carga parasitaria leve no se manifestarán signos clínicos, aunque habrá una disminución de la fertilidad y un retardo en el crecimiento, en severas cargas parasitarias habrá una marcada pérdida de peso y alta mortalidad. También los peces parasitados por monogéneos presentan necrosis y heridas sangrantes en tegumento y branquias (Flores y Flores, 2003).

#### 2.4.1.3 Enfermedades micóticas

##### 2.4.1.3.1 *Microsporidium sp.*

Los microsporidios son un gran conjunto de parásitos intracelulares Eucariotas que infectan a una gran variedad de líneas de animales, inclusive humanos. En el pasado han sido considerados erróneamente protozoos. Pero ahora son ampliamente reconocidos como Hongos poco evolucionados por lo que muestran una apariencia primitiva (Burri *et al.*, 2006).

Principalmente afectan el músculo de los animales y las infecciones pueden estar asociadas con altas mortalidades, en cultivos intensivos (Canning *et al.*, 2002). Muchas especies también infectan severamente otros tejidos incluyendo gónadas, tejido conectivo, corazón, branquias, y las células epiteliales del hepatopáncreas (Lightner 1996; Karunasagar, 2005).

En general, el ciclo de vida de los microsporidios se divide en tres fases; la fase infectiva o fase ambiental, la fase proliferativa o merogónica y la fase de esporogonia o fase de formación de las esporas. La fase infectiva incluye la liberación de esporas al ambiente donde encuentran las condiciones para poder germinar. Las fases proliferativa

y esporogonia, se desarrollan intracelularmente en las células infectadas del huésped. Las esporas contienen un aparato de extrusión (denominado túbulo polar) que inyecta el contenido infectivo de la espora dentro de la célula huésped (García, 2002).

Las especies de microsporidios pueden ser distinguidos por el tamaño de las esporas (entre 1 y 8  $\mu\text{m}$ ), el número de esporas producidas y el número de giros del túbulo polar (Iversen *et al.*, 1987).

#### 2.4.2 Enfermedades de origen no infeccioso

##### 2.4.2.1 Por calidad de agua

###### 2.4.2.1.1 Amoníaco

El amoníaco es producto de la descomposición de la materia orgánica que proviene de la dinámica de los microorganismos en el agua y los metabolitos del Paiche, siendo este tóxico para la especie. El nivel de amoníaco letal es proporcional a la cantidad de oxígeno disuelto, ya que el espacio que deja libre el oxígeno en el agua lo ocupa el amoníaco. (Nagase *et al.*, 2005)

###### 2.4.2.1.2 Temperatura

Los reproductores de *A. gigas* presentan límites de tolerancia térmica relativamente amplios comparados con los alevinos que se deben mantener a una temperatura entre 26°C – 29°C, ya que éstos últimos son más susceptibles a estrés térmico cuando son sometidos a bajas temperaturas durante un tiempo prolongado, pudiendo ocasionar la muerte (Franco, 2007). Temperaturas menores a 24 °C son mortales para los alevinos de paiche en etapas juveniles (Franco, 2003).

###### 2.4.2.1.3 Oxígeno disuelto

Según Franco (2003), las bajas concentraciones de oxígeno disuelto no presentan inconvenientes, para los alevinos (mayores 3,0 cm) de los paiches, debido a su doble respiración, la cual es branquial y pulmonar, siendo éstas dos vitales y complementarias.

Según Rebaza (1999), el rango deseable de oxígeno disuelto en el agua para cultivo de paiche es de 5 ppm; Caveró (2003), establece este rango entre 4,5 a 6,0 ppm.

#### 2.4.2.1.4 pH

Las estructuras branquiales de los peces son altamente sensibles a valores extremos de pH (básicos o ácidos), casos en los cuales se presentan daños de las laminillas y en el tejido que recubre las branquias. En ambientes enriquecidos orgánicamente, como son los estanques de piscicultura, se presentan desequilibrios notables de pH en el ciclo día y noche. En horas de la mañana, suele presentarse en estos ambientes el estrés ácido, que se manifiesta en los peces, por la excesiva acumulación de mucus en el tejido branquial que interfiere en el intercambio gaseoso causando estrés respiratorio y desequilibrio de sustancias entre el medio acuático y en el pez. A valores bajos de pH, igual o por debajo de 4 y por encima de 11 unidades, se produce la muerte (Franco, 2005). El pH recomendado para el manejo del paiche debe estar entre 6,5 y 8,0 unidades (Franco y Paláez, 2007).

#### 2.4.2.2 Por factores nutricionales

Son de importancia en cultivos piscícolas donde las especies son alimentadas con dietas artificiales, ya que pueden ocasionar un desequilibrio en los nutrientes o poseer factores contaminantes o tóxicos (Corral *et al.*, 2000).

Un exceso de lípidos provoca acumulación de grasa en el hígado, riñón y bazo, tumefacción, degeneración y coloración amarillenta del hígado, anemia, estenosis intestinal y pérdida de peso, mientras que la carencia lipídica causa una detención del

crecimiento, necrosis de las aletas, despigmentación y edema cutáneo, degeneración hepática y renal, anemia, alteración en la natación (Corral *et al.*, 2000).

Un exceso de proteínas, produce un aumento del gasto energético para la excreción de nitrógeno, lo que conlleva a una merma del crecimiento, mientras que las deficiencias producen una baja en el sistema inmunitario y pérdida del crecimiento (Cowey y Roberts, 1981; Corral *et al.*, 2000). Un exceso de carbohidratos ocasiona un incremento del glucógeno hepático, ocasionando degeneración hepática, degeneración pancreocítica, infiltración grasa en el riñón, retraso del crecimiento, mientras que la carencia ocasiona reducción del crecimiento (Cowey y Roberts, 1981; Corral *et al.*, 2000). La deficiencia en vitamina C ocasiona retardo del crecimiento, falta de apetito, alteraciones en la columna espinal, anemia y letargia, así como la deficiencia de ácido fólico ocasiona anemia eritrocítica, deficiencia en vitamina A ocasiona retardo del crecimiento y ceguera (Cowey y Roberts, 1981).



### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Materiales**

##### **3.1.1 Relativos a la necropsia**

- Pinzas
- Tijera punta roma
- Guantes
- Mechero

- Hoja de Bisturí
- Frasco de plástico para coleccionar
- Formalina taponada al 10%
- Casetes histológicos.
- Alcohol 70%

### 3.1.2 Relativos al proceso histológico

#### 3.1.2.1 Tinción Hematoxilina & Eosina.

- Alcohol etílico
- Xilol
- Parafina
- Porta objetos
- Cubre objetos
- Hematoxilina
- Eosina

#### 3.1.2.2 Tinción Gram

- Alcohol etílico
- Xilol
- Parafina
- Porta objetos

- Cubre objetos
- Cristal violeta
- Iodina
- Safranina

### 3.1.3 Relativo a los equipos

- Microscopio óptico marca Nikon con aumento de 50x, 100x, 400x, y 1000x.
- Cámara digital marca Nikon.

## **3.2 Metodología**

### 3.2.1 Localización

El muestreo se realizó en la Estación Experimental del IVITA-Pucallpa, ubicada en el distrito de Campo Verde, provincia de Coronel Portillo, departamento de Ucayali y la evaluación histopatológica de las muestras se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Embriología, Histología y Patología Veterinaria, de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

### 3.2.2 Especímenes

Treinta alevinos de paiche (*Arapaima gigas*) de  $(5.46 \pm 0.17$  cm. de longitud y  $0.72 \pm 0.06$  g de peso promedio) fueron muestreados, para ser usados en el estudio. Los peces nacieron en estanques de la Estación Experimental IVITA - Pucallpa y fueron mantenidos por cuatro semanas en tinas de plástico con capacidad de 17 litros de agua, albergando hasta un máximo de 40 alevines y posteriormente trasladados a tanques de mayor densidad. Éstos fueron alimentados con zoo plancton y truchina molida; a una ración de 75/25 % hasta llegar a una ración de 0/100%, respectivamente. Los

especímenes presentaron signos de aislamiento, cambios de coloración, arqueamiento del cuerpo, nado en tirabuzón y apertura del opérculo de manera continua. Los alevines seleccionados para el estudio se colectaron aleatoriamente entre la segunda y tercera semana posterior a su levante. Éstos fueron puestos en recipientes con agua conteniendo benzocaína 1g/20 L (Ross *et al.*, 2008) donde fueron anestesiados con baños de inmersión de 10-15 segundos para evitar el sufrimiento animal de acuerdo al Comité de Ética y Bienestar Animal de la FMV-UNMSM. Posteriormente se realizó el sacrificio, mediante la técnica de corte medular con hoja de bisturí, entre el cerebro y medula espinal (Roberts y Shepherd 1980, Rosenthal, 2007); y todo el espécimen fue fijado en frascos con formalina tamponada al 10%.

### 3.2.3 Procedimientos

#### 3.2.3.1 Necropsia

Se realizó las necropsias según la técnica de rutina descrita por Reimschuessel *et al.*, (1988), la cual consistió en realizar un corte en sagital del pez completo, para posteriormente colocarlo, en un casete de procesamiento histológico. Finalmente los casetes fueron depositados en frascos con formalina tamponada al 10% y almacenados para su posterior procesamiento.

#### 3.2.3.2 Histopatología

Las muestras en los frascos con formalina tamponada al 10% fueron procesadas mediante las técnicas de rutina (inclusión en parafina, tinción con H-E y Gram), las cuales se detallan en el **Anexo 1**.

### 3.2.4 Análisis de datos

Las alteraciones histopatológicas observadas en los tejidos serán clasificadas en trastornos inflamatorios, circulatorios, del crecimiento, degenerativos, bacterianos y parasitarios; según los parámetros tomados en el **Cuadro 1**. Esta clasificación, fue para los siguientes órganos y tejidos: Piel, músculo esquelético, branquias, hígado, riñón e intestino. Para el caso de hígado se utilizó el **Cuadro 2**, para categorizar la degeneración grasa.

| GRADO  | EXTENSIÓN DE LA LESIÓN  |
|--|---|
| I  | Escasa presencia de lesión, hasta 25% aproximadamente de toda la muestra.                     |
| II   | Leve presencia de lesión, por encima de 25% hasta 50% aproximadamente de toda la muestra.     |
| III  | Moderada presencia de lesión, por encima de 50% hasta 75% aproximadamente de toda la muestra. |
| IV   | Severa presencia de lesión, por encima de 75% hasta 100% aproximadamente de toda la muestra.  |
| I: Escaso; II: Leve; III: Moderado; IV: Severo |   |

**Cuadro 1. Clasificación de los tejidos según el grado y severidad por extensión de la lesión.**

Fuente: Reimschuessel et al., 1992.

| GRADO | SEVERIDAD  | EXTENSIÓN   |
|-------|--|---|
| I     | Escasa presencia de microvacuólas predominantemente de borde definido. | Multifocal, hasta 25% aproximadamente de toda la muestra.                   |
| II    | Leve presencia de micro y/o macrovacuólas de borde definido.           | Multifocal, por encima de 25% hasta aproximadamente 50% de toda la muestra. |

|  |   |   |
|--|---|---|
| III  | Moderada presencia de macro y microvacuolas de borde definido.          | Difuso, por encima de 50% hasta aproximadamente 75% de toda la muestra. |
| IV   | Severa presencia de macrovacuolas dentro del citoplasma del hepatocito. | Difuso, por encima de 75% hasta aproximadamente 100% de toda la muestra |
| I: Escaso; II: Leve; III: Moderado; IV: Severo |   |   |

**Cuadro 2. Clasificación de la Degeneración Grasa de acuerdo a severidad y extensión de la lesión.**

Fuente: Reimschuessel *et al.*, 1992 modificado por Rosenthal, 2007.

### 3.2.5 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados del estudio histopatológico, se utilizó un análisis de frecuencia, indicando el porcentaje de cada variable con respecto al total de población analizada.

La frecuencia (F) fue determinada mediante la fórmula:

$$F = (N^{\circ} \text{ de animales con } x) / (N^{\circ} \text{ total de muestras}) \times 100$$

Donde (x) representa las lesiones microscópicas determinadas por histopatología.

Los resultados microscópicos de las lesiones, según el grado de afección por su extensión en los tejidos, se presentaron en una escala de grados que va de 1-4 descrita anteriormente; con la finalidad de hacer una evaluación más objetiva.

## **IV. RESULTADOS**

### **4.1 Piel**

Dentro de las alteraciones histológicas en la piel (**Cuadro 3**), se observó hiperplasia de las células mucosas en un 100 % (30/30), de manera escasa a moderada (**Figura 2A**).

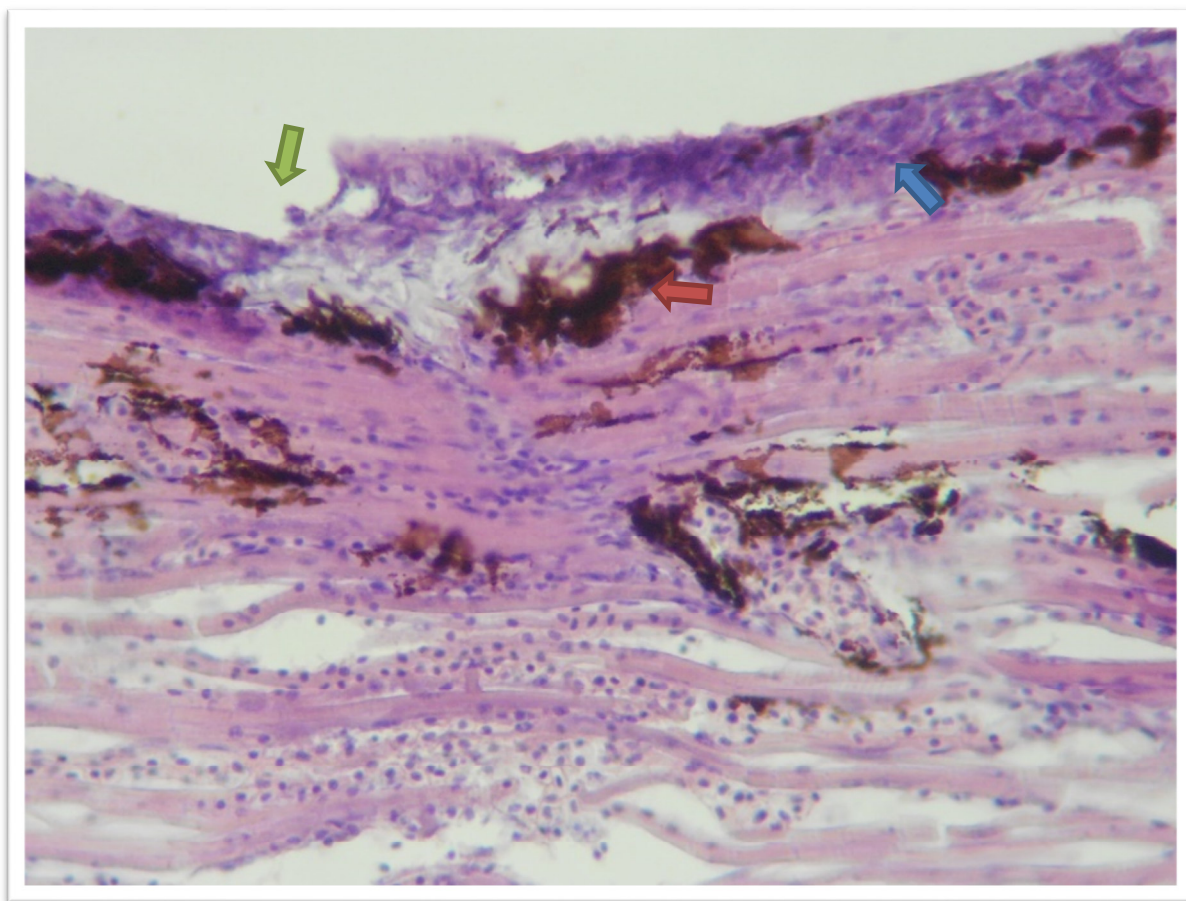
Así mismo, necrosis del tejido epitelial en un 77.67 % (23/30) de manera escasa a moderada, en conjunto con un infiltrado de células inflamatorias y bacterianas en un 66.66 % (20/30) y 100 % (30/30) respectivamente, ambos de una manera escasa a leve. Además se observó incremento de las células melanóforas en degranulación en un 100 % (30/30) de manera moderada a severa (**Figura 2B**).

**Cuadro 3. Frecuencia de alteraciones histológicas de la piel según tipo de trastorno y su grado de afección en el paiche (*Arapaima gigas*).**

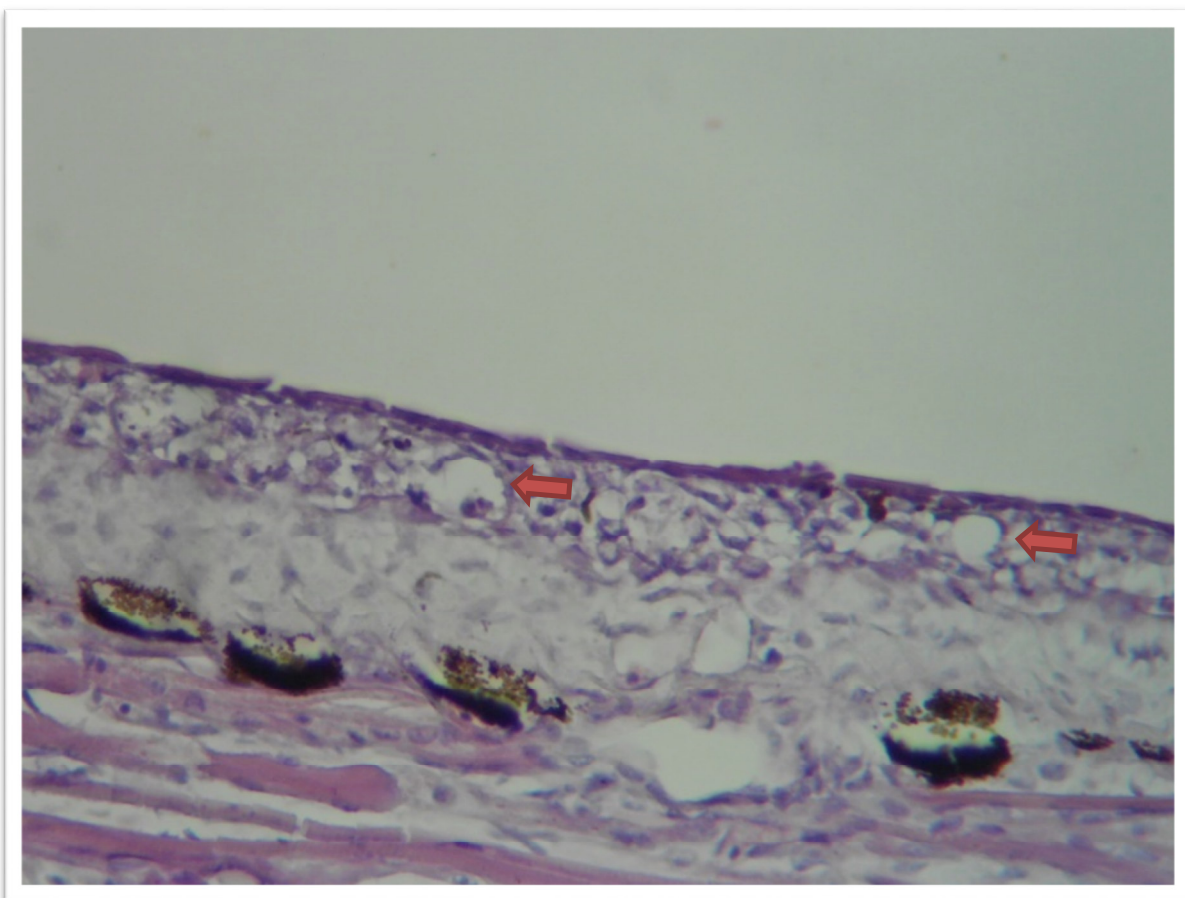
| TIPO DE<br>TRANSTORNO<br>/LESIONES           | GRADO DE AFECCIÓN |        |       |          |        | ALTERACIÓN |       |
|--|-------------------|--------|-------|----------|--------|------------|-------|
|  | Normal            | Escaso | Leve  | Moderado | Severo | Total      | %     |
| <b>INFLAMATORIAS</b>                         |                   |        |       |          |        |            |       |
| Infiltración de células inflamatorias        | 10/30             | 10/30  | 10/30 | 0/30     | 0/30   | 20/30      | 66.66 |
| <b>DEL<br/>CRECIMIENTO</b>                   |                   |        |       |          |        |            |       |
| Hiperplasia de células mucosas               | 0/30              | 4/30   | 16/30 | 10/30    | 0/30   | 30/30      | 100   |
| <b>DEGENERATIVAS</b>                         |                   |        |       |          |        |            |       |
| Necrosis                                     | 7/30              | 11/30  | 10/30 | 2/30     | 0/30   | 23/30      | 77.67 |
| <b>BACTERIANAS</b>                           |                   |        |       |          |        |            |       |
| Infiltración de estructuras bacterianas      | 0/30              | 13/30  | 17/30 | 0/30     | 0/30   | 30/30      | 100   |
| <b>OTROS</b>                                 |                   |        |       |          |        |            |       |
| Melanóforos incrementados y en degranulación | 0/30              | 0/30   | 2/30  | 15/30    | 13/30  | 30/30      | 100   |







**Figura 2A.** Corte histológico de piel de *A. gigas* (Tinción H&E, 400x). Se observa el incremento de los melanóforos (flecha roja), infiltración de células inflamatorias (flecha azul) y necrosis epitelial (flecha verde).



**Figura 2B. Corte histológico de piel de *A. gigas* (Tinción H&E, 400x). Se observa la hiperplasia de las células mucosas (flecha roja).**

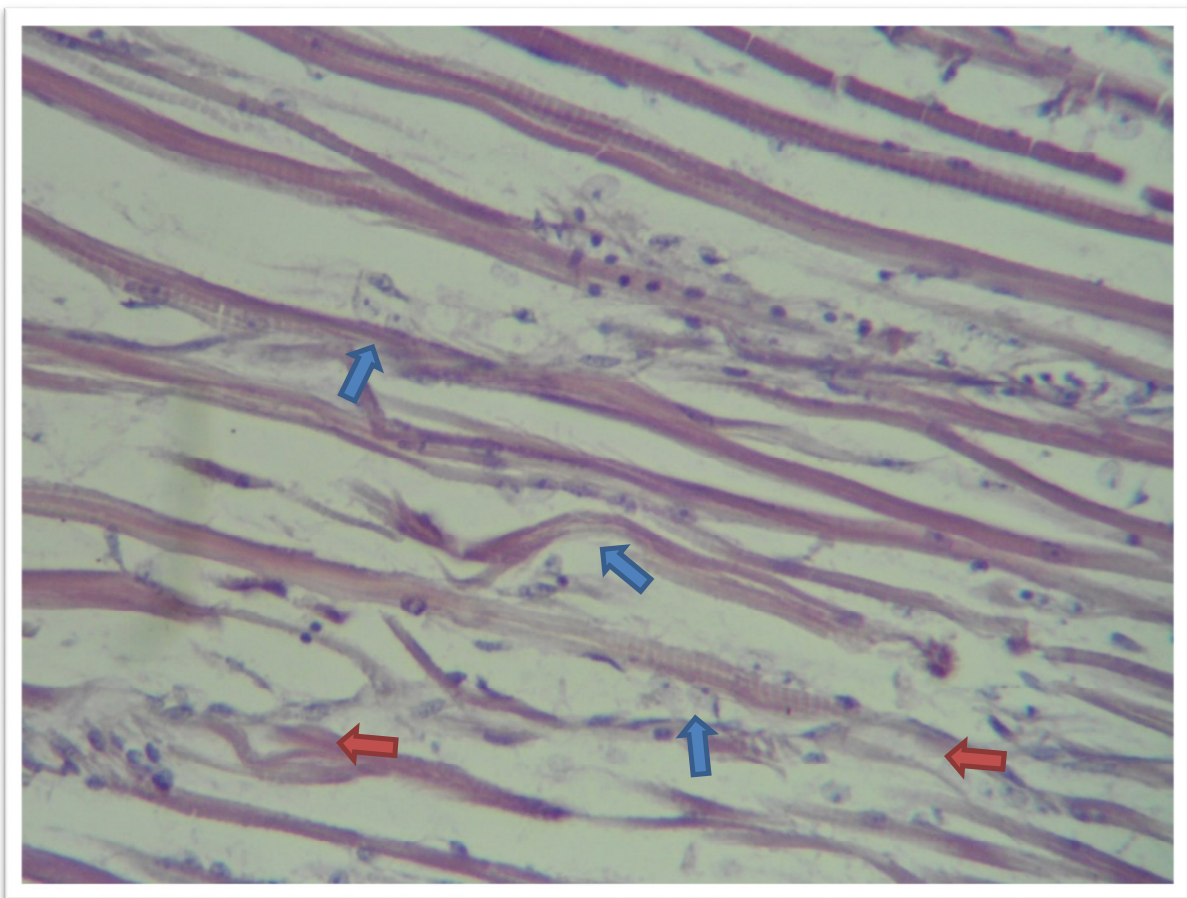
## 4.2 Músculo esquelético

Dentro de las alteraciones histológicas en músculo esquelético (**Cuadro 4**) se observaron trastornos degenerativos como leve a moderada necrosis muscular en un 100 % (30/30). Se observó además una escasa a leve hiperemia 100 % (30/30) (**Figura 3B**).

Así mismo, se observaron estructuras parasitarias de forma redondeada y ovalada, de color basófilo, con uno o dos núcleos, dentro y entre las fibras musculares, sugerentes de ser merontes uninucleados y en división de *Microsporidium sp* 100 % (30/30), de manera leve a moderada. Estos, son un estadio del ciclo de vida del *Microsporidium sp.* (**Figuras 3A, 3C, 3D**). Así mismo, se observa una escasa a leve presencia de células inflamatorias 96.66 % (29/30) en las zonas donde hay mayor presencia de las esporas, así como necrosis muscular en el tejido afectado, leve a moderada separación de las fibras musculares 100 % (30/30) y escasa a moderada presencia de estructuras bacterianas 100 % (30/30) (**Figura 3B**).

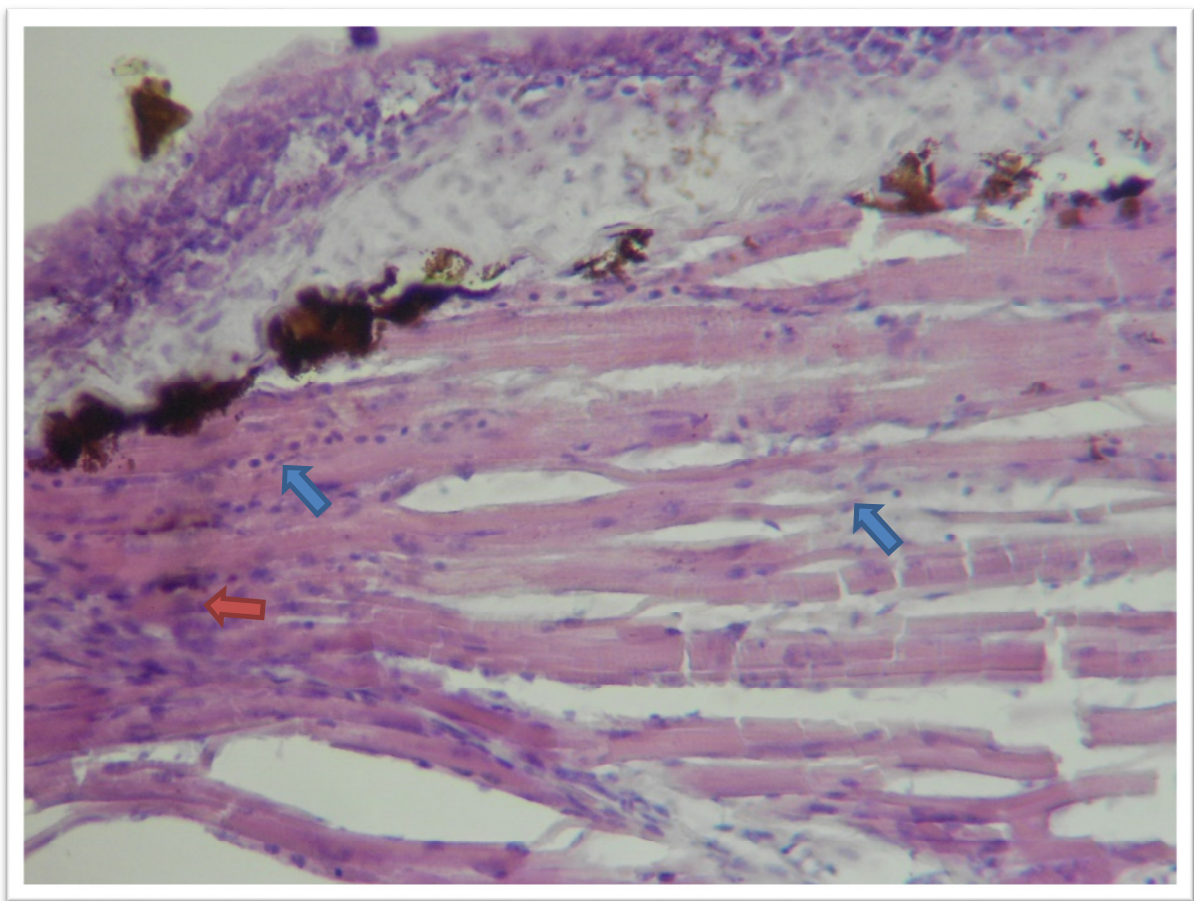
**Cuadro 4. Frecuencia de alteraciones histológicas del musculo esquelético según tipo de trastorno y su grado de afección en el Paiche (*Arapaima gigas*).**

| TIPO DE TRASTORNO / LESIONES            | GRADO DE AFECCIÓN |        |       |          |        | ALTERACIÓN |       |
|---|-------------------|--------|-------|----------|--------|------------|-------|
|   | Normal            | Escaso | Leve  | Moderado | Severo | Total      | %     |
| <b>INFLAMATORIAS</b>                    |                   |        |       |          |        |            |       |
| Infiltración de células inflamatorias   | 1/30              | 11/30  | 15/30 | 0/30     | 0/30   | 29/30      | 96.66 |
| <b>CIRCULATORIAS</b>                    |                   |        |       |          |        |            |       |
| Hiperemia                               | 0/30              | 11/30  | 19/30 | 0/30     | 0/30   | 30/30      | 100   |
| <b>DEGENERATIVAS</b>                    |                   |        |       |          |        |            |       |
| Necrosis muscular                       | 0/30              | 7/30   | 20/30 | 4/30     | 0/30   | 30/30      | 100   |
| Separación fibras musculares            | 0/30              | 0/30   | 16/30 | 14/30    | 0/30   | 30/30      | 100   |
| <b>BACTERIANAS</b>                      |                   |        |       |          |        |            |       |
| Infiltración de estructuras bacterianas | 0/30              | 10/30  | 14/30 | 6/30     | 0/30   | 30/30      | 100   |
| <b>PARASITARIAS</b>                     |                   |        |       |          |        |            |       |
| Merontes de <i>Microsporidium sp.</i>   | 0/30              | 0/30   | 9/30  | 21/30    | 0/30   | 30/30      | 100   |

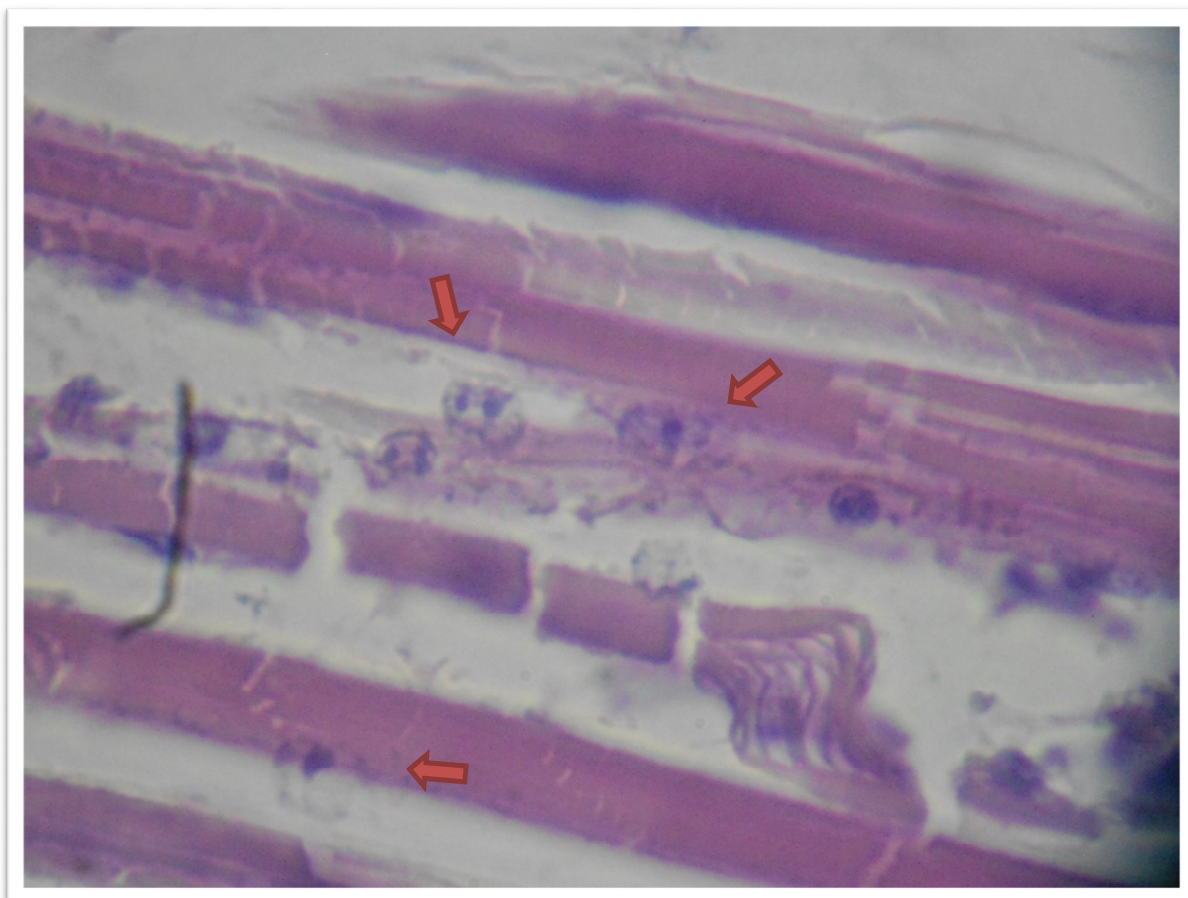


**Figura 3A.** Corte histológico de musculo de *A. gigas* (Tinción H&E, 400x). Se observa la separación de las fibras musculares (flecha roja), así como la presencia de merontes de *Microsporidium sp* (flecha azul).

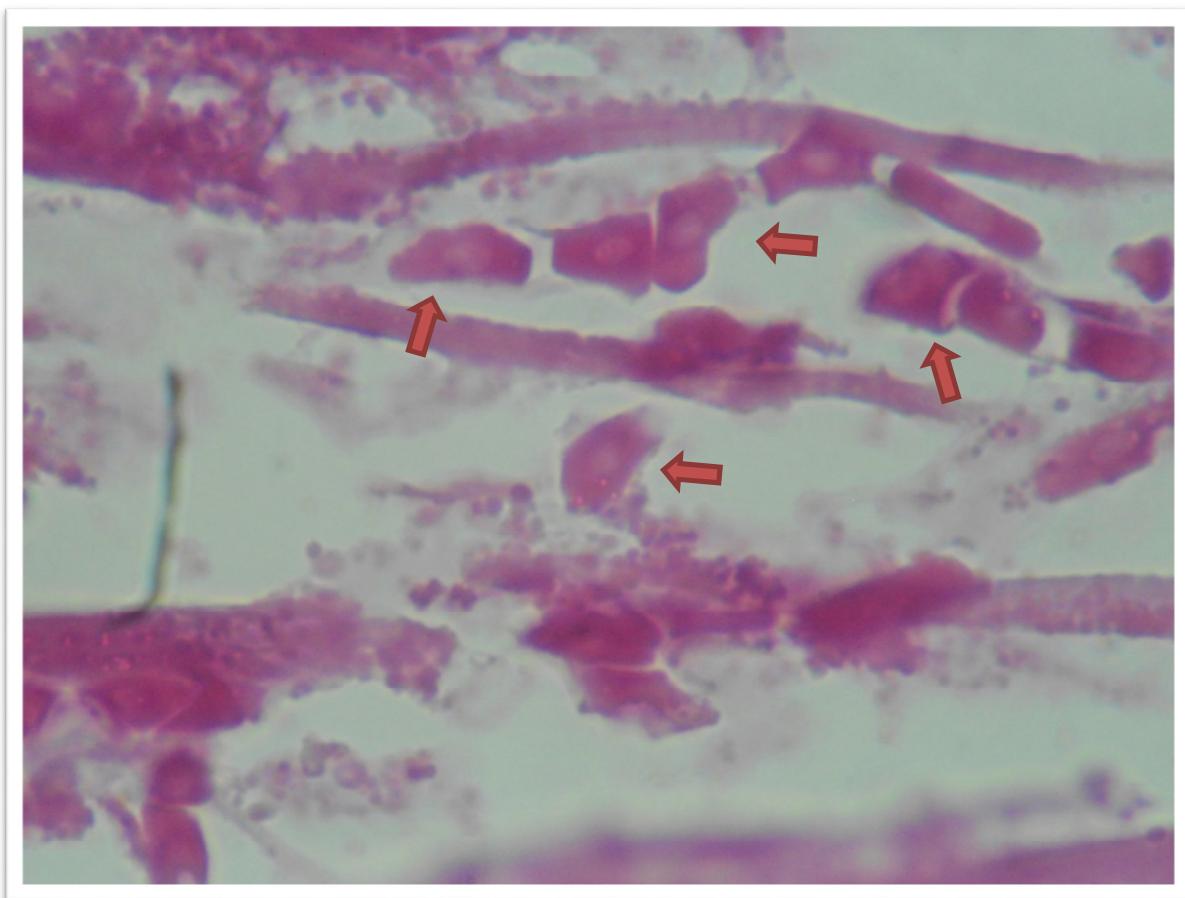




**Figura 3B.** Corte histológico de musculo de *A. gigas* (Tinción H&E, 400x). Se observa zonas de necrosis (flecha roja), así como la infiltración de células inflamatoria (flecha azul).



**Figura 3C. Corte histológico de musculo de *A. gigas* (Tinción H&E, Objetivo de inmersión 1000x). Se observa la presencia de merontes de *Microsporidium sp.* (Flecha roja)**



**Figura 3D.** Corte histológico de musculo de *A. gigas* (Tinción Gram, Objetivo de inmersión 1000x). Se observa la presencia de merontes de *Microsporidium sp.* (Flecha roja)

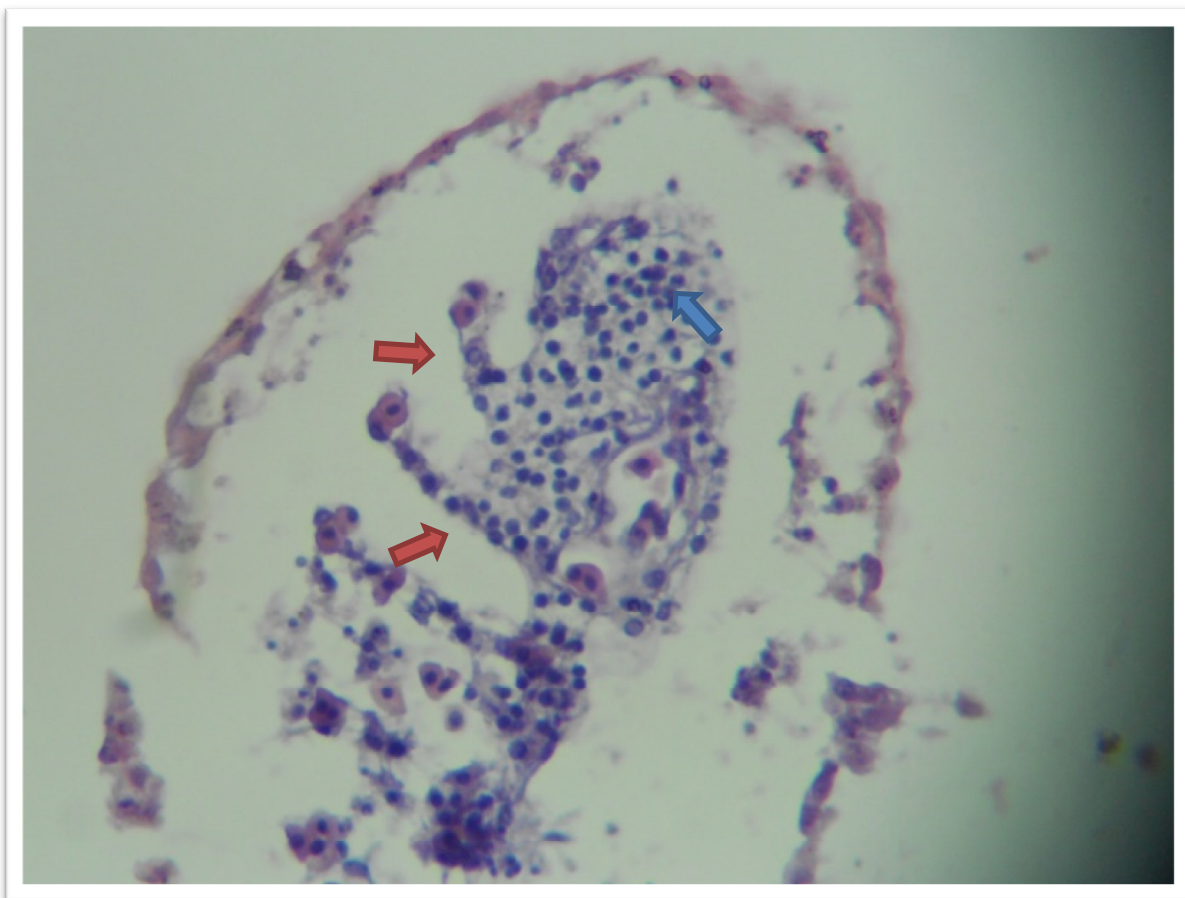


## 4.5 Branquias

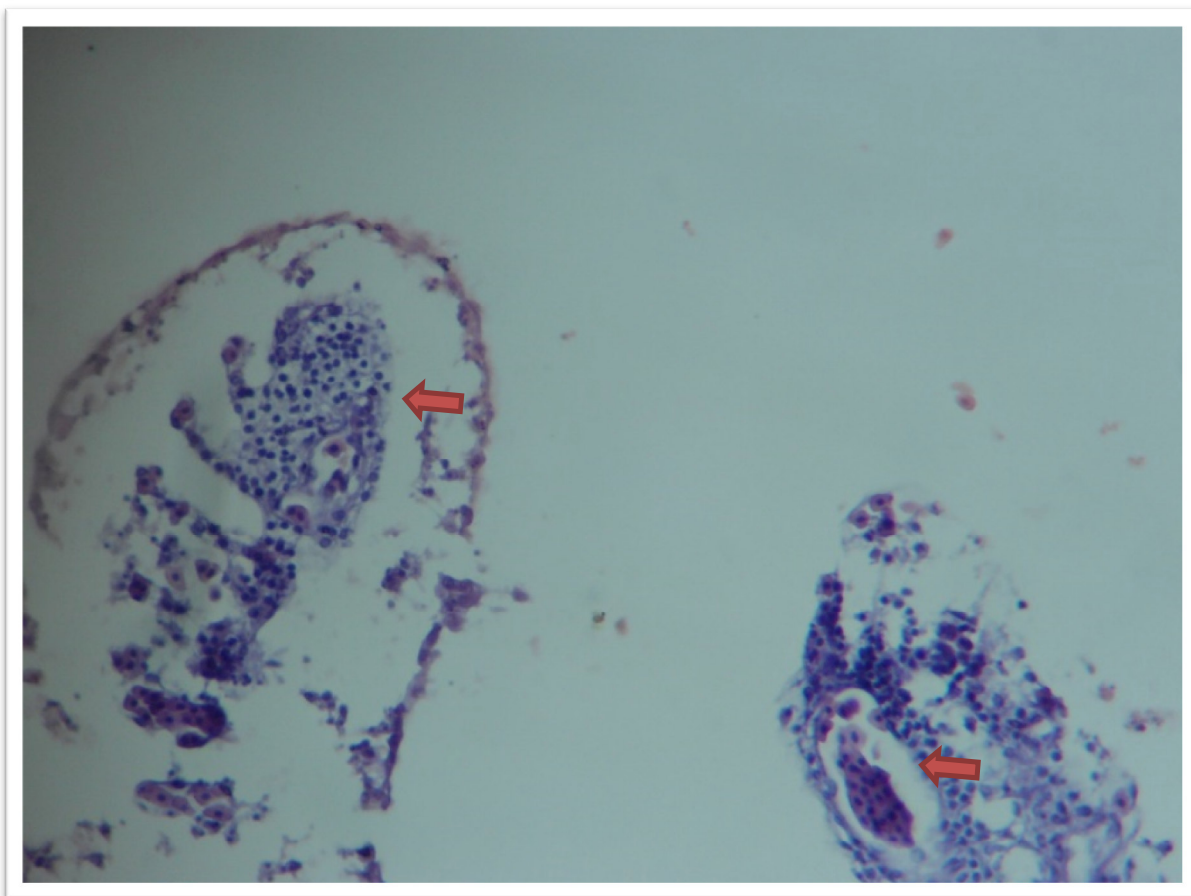
Dentro de las alteraciones histológicas en las branquias (**Cuadro 5**), se observa una leve a moderada hiperplasia de los filamentos branquiales, así como congestión y fusión de lamelas en un 100 % (30/30), respectivamente (**Figuras 4A, 4B**).

**Cuadro 5. Frecuencia de alteraciones histológicas de las branquias según tipo de trastorno y su grado de afección en el paiche (*Arapaima gigas*).**

| TIPO DE<br>TRANSTORNO<br>/LESIONES     | GRADO DE AFECCIÓN |        |       |          |        | ALTERACIÓN |     |
|--|-------------------|--------|-------|----------|--------|------------|-----|
|  | Normal            | Escaso | Leve  | Moderado | Severo | Total      | %   |
| <b>CIRCULATORIOS</b>                   |                   |        |       |          |        |            |     |
| Congestión<br>filamento branquial      | 0/30              | 0/30   | 11/30 | 19/30    | 0/30   | 30/30      | 100 |
| <b>DEL<br/>CRECIMIENTO</b>             |                   |        |       |          |        |            |     |
| Hiperplasia del<br>filamento branquial | 0/30              | 0/30   | 17/30 | 13/30    | 0/30   | 30/30      | 100 |
| Fusión de las<br>lamelas               | 0/30              | 0/30   | 14/30 | 16/30    | 0/30   | 30/30      | 100 |



**Figura 4A.** Corte histológico de branquia de *A. gigas* (Tinción H&E, 400x). Se puede apreciar la hiperplasia de los filamentos branquiales (flecha roja), así como la fusión de las lamelas (flecha azul).



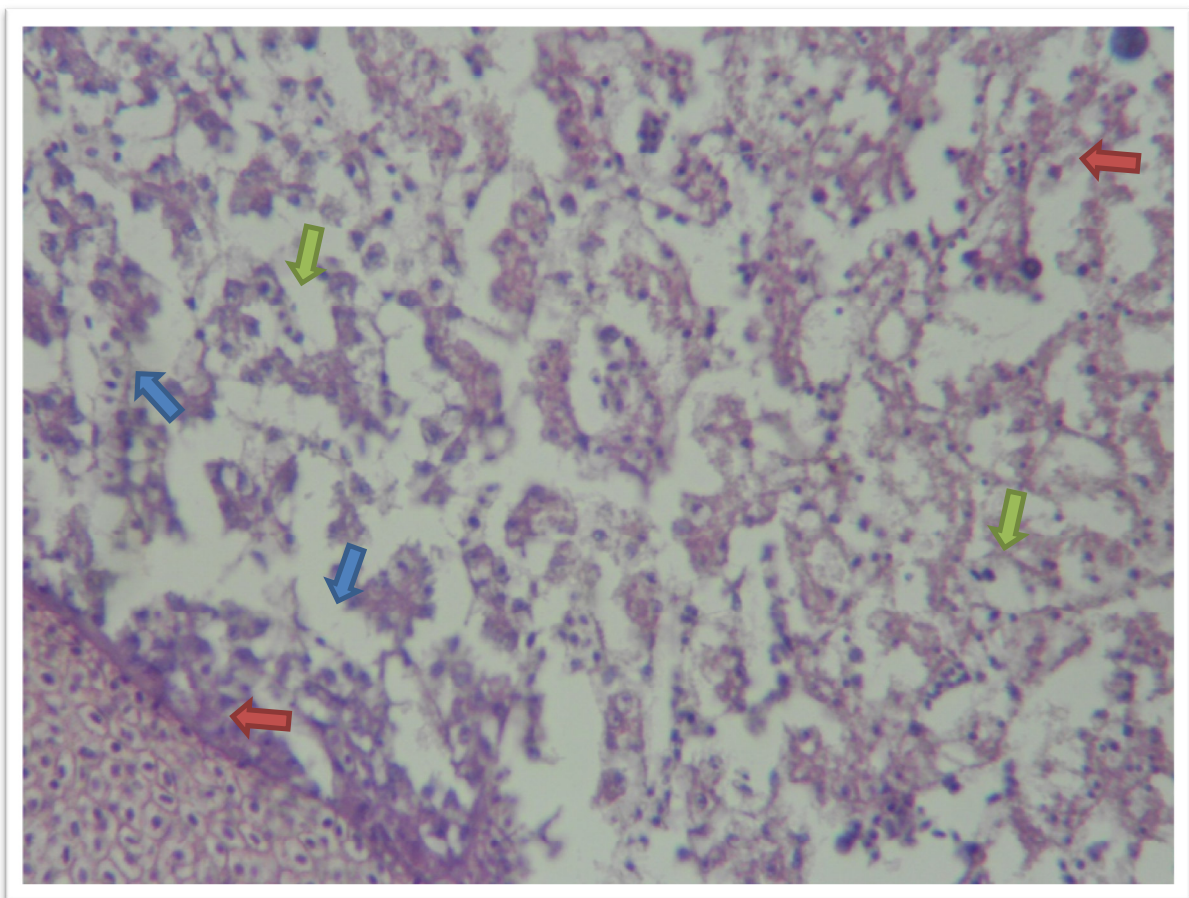
**Figura 4B. Corte histológico de branquia de *A. gigas* (Tinción H&E, 400x). Se puede apreciar la leve a moderada congestión (flecha roja).**

## 4.6 Hígado

Dentro de las alteraciones histológicas en el hígado (**Cuadro 6**), los trastornos degenerativos más frecuentes fueron escasa a leve necrosis 100 % (30/30) en todo el parénquima, así como escasa a moderada infiltración de células inflamatorias 100 % (30/30) y bacterianas 100% (30/30), en las zonas de necrosis. Así mismo, se observó congestión 100 % (30/30), así como presencia de centro melanomacrófagos 50 % (15/30) en todo el parénquima, ambos de forma escasa a moderada (**Figura 5**).

**Cuadro 6. Frecuencia de alteraciones histológicas del Hígado según tipo de trastorno y su grado de afección en el paiche (*Arapaima gigas*).**

| TIPO DE TRASTORNO / LESIONES            | GRADO DE AFECCIÓN |        |       |          |        | ALTERACIÓN |     |
|---|-------------------|--------|-------|----------|--------|------------|-----|
|   | Normal            | Escaso | Leve  | Moderado | Severo | Total      | %   |
| <b>INFLAMATORIAS</b>                    |                   |        |       |          |        |            |     |
| Infiltración de células inflamatorias   | 0/30              | 6/30   | 20/30 | 4/30     | 0/30   | 30/30      | 100 |
| <b>CIRCULATORIAS</b>                    |                   |        |       |          |        |            |     |
| Congestión                              | 0/30              | 3/30   | 13/30 | 15/30    | 2/30   | 30/30      | 100 |
| <b>DEGENERATIVAS</b>                    |                   |        |       |          |        |            |     |
| Necrosis                                | 0/30              | 8/30   | 22/30 | 0/30     | 0/30   | 30/30      | 100 |
| <b>BACTERIANAS</b>                      |                   |        |       |          |        |            |     |
| Infiltración de estructuras bacterianas | 0/30              | 0/30   | 25/30 | 5/30     | 0/30   | 30/30      | 100 |
| <b>OTROS</b>                            |                   |        |       |          |        |            |     |
| Centros melanomacrófagos                | 15/30             | 7/30   | 4/30  | 4/30     | 0/30   | 15/30      | 50  |



**Figura 5.** Corte histológico del hígado de *A. gigas* (Tinción H&E, 400x). Se observa zonas de congestión (flecha roja), necrosis (flecha azul) e infiltración de células inflamatorias y bacterianas (flecha verde).

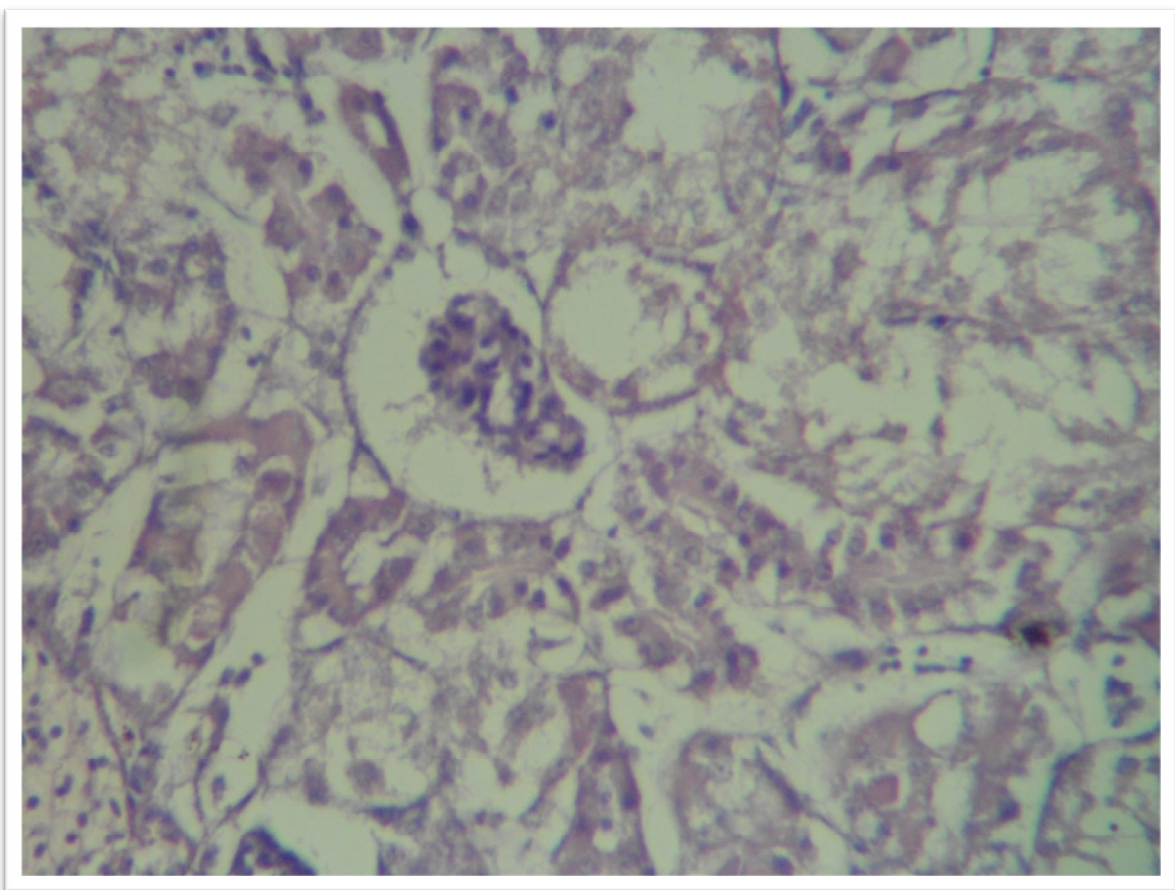
#### 4.7 Riñón

Dentro de las alteraciones histológicas renales (**Cuadro 7**), los trastornos degenerativos más frecuentes fueron moderada a severa degeneración hidrópica tubular 100 % (30/30), escasa a moderada necrosis tubular 100 % (30/30) y escasa a leve necrosis glomerular 93.34 % (28/30) (**Figura 6A**). Además leve a moderada congestión 100 % (30/30), así como escasa a moderada presencia de centro melanomacrófagos 100 % (30/30) y leve a moderado infiltrado bacteriano 100 % (30/30) en todo el parénquima (**Figura 6B**).

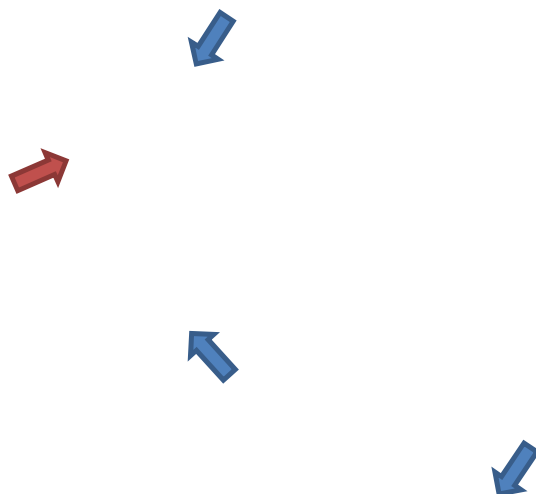
**Cuadro 7. Frecuencia de alteraciones histológicas del Riñón según tipo de trastorno y su grado de afección en el Paiche (*Arapaima gigas*).**

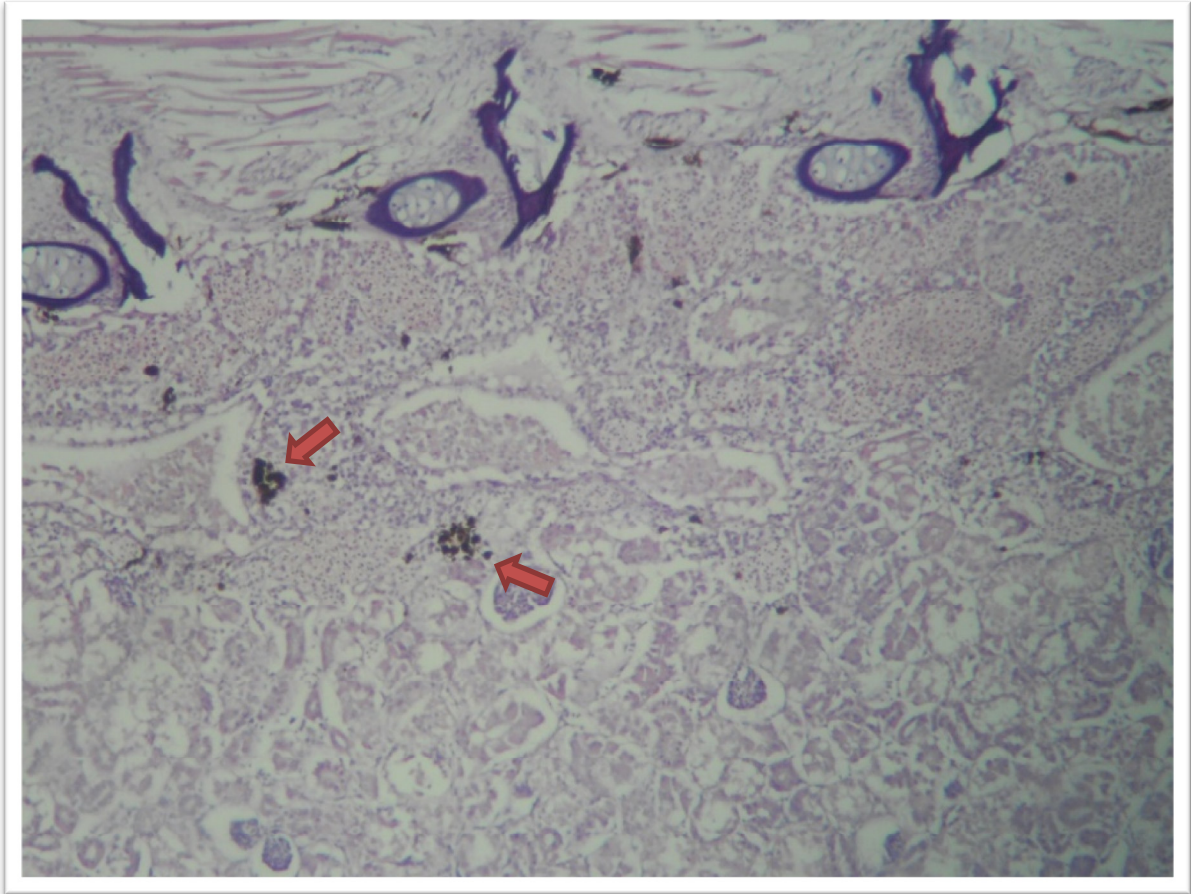
| TIPO DE TRASTORNO / LESIONES            | GRADO DE AFECCIÓN |        |       |          |        | ALTERACIÓN |       |
|---|-------------------|--------|-------|----------|--------|------------|-------|
|   | Normal            | Escaso | Leve  | Moderado | Severo | Total      | %     |
| <b>CIRCULATORIAS</b>                    |                   |        |       |          |        |            |       |
| Congestión                              | 0/30              | 3/30   | 15/30 | 12/30    | 0/30   | 30/30      | 100   |
| <b>DEGENERATIVAS</b>                    |                   |        |       |          |        |            |       |
| Degeneración hidrópica                  | 0/30              | 0/30   | 0/30  | 19/30    | 11/30  | 30/30      | 100   |
| Necrosis tubular                        | 0/30              | 5/30   | 16/30 | 9/30     | 0/30   | 30/30      | 100   |
| Necrosis glomerular                     | 2/30              | 24/30  | 4/30  | 0/30     | 0/30   | 28/30      | 93.34 |
| <b>BACTERIANAS</b>                      |                   |        |       |          |        |            |       |
| Infiltración de estructuras bacterianas | 0/30              | 0/30   | 23/30 | 7/30     | 0/30   | 30/30      | 100   |
| <b>OTROS</b>                            |                   |        |       |          |        |            |       |
| Centros melanomacrófagos                | 0/30              | 4/30   | 13/30 | 13/30    | 0/30   | 30/30      | 100   |





**Figura 6A. Corte histológico de riñón de *A. gigas* (Tinción H&E, 400x). Se observa las zonas de degeneración hidrópica (flecha roja) y necrosis (flecha azul).**





**Figura 6B. Corte histológico de riñón de *A. gigas* (Tinción H&E, 100x). Se observa los centros melanomacrófagos infiltrados en el parénquima renal (flecha roja).**



#### 4.8 Intestino

Dentro de las alteraciones histológicas en el intestino (**Cuadro 8**), los trastornos degenerativos más frecuentes fueron desprendimiento de la mucosa intestinal 100 % (30/30), variando desde escaso a moderada presencia. Además se observó escaso a leve hiperplasia de las células mucosas 50 % (15/30).

**Cuadro 8. Frecuencia de alteraciones histológicas del Intestino según tipo de trastorno y su grado de afección en el paiche (*Arapaima gigas*).**

| TIPO DE<br>TRANSTORNO<br>/LESIONES         | GRADO DE AFECCIÓN |        |       |          |        | ALTERACIÓN |     |
|--|-------------------|--------|-------|----------|--------|------------|-----|
|  | Normal            | Escaso | Leve  | Moderado | Severo | Total      | %   |
| <b>DEL<br/>CRECIMIENTO</b>                 |                   |        |       |          |        |            |     |
| Hiperplasia de<br>células mucosas          | 15/30             | 6/30   | 9/30  | 0/30     | 0/30   | 15/30      | 50  |
| <b>DEGENERATIVAS</b>                       |                   |        |       |          |        |            |     |
| Desprendimiento de<br>la mucosa intestinal | 0/30              | 14/30  | 11/30 | 5/30     | 0/30   | 30/30      | 100 |

## V. DISCUSIÓN

Estudios relacionados a las alteraciones histopatológicas en alevinos de paiche de cultivo (*Arapaima gigas*), no han sido descritos hasta el momento en el país. Existe escasa bibliografía que evidencie que esta especie es susceptible a diferentes agentes infecciosos, siendo los parásitos monogéneos, así como del género *Trichodina sp.* e *Ichthyobodo sp* los más comunes.

A nivel de la piel se encontraron lesiones relacionadas a un proceso inflamatorio leve asociado a bacterias gram negativas, con un proceso circulatorio y de regeneración. Este tipo de lesiones son similares a las encontradas por Mohamed *et al.* (2008) en Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) infectadas naturalmente con *Aeromonas hydrophila* y *Pseudomonas fluorescence*. Estos hallazgos se atribuyen a la capacidad de producción de enzimas extracelulares por parte de estas bacterias infecciosas, las cuales tienen actividades hemolíticas y proteolíticas, siendo reportado por Austin y Austin, (1987).

Tales enzimas producidas por las bacterias tienen un efecto tóxico, los cuales juegan un papel importante en la causa de exudación, hemorragia, degeneración y necrosis de los tejidos. Dicho efecto sobre las células epiteliales conduce a la irritación y la posterior hiperplasia de las células de Malpighi y las células mucosas como mecanismos de defensa contra los peligros de las toxinas. Además, afecta el revestimiento endotelial de los vasos sanguíneos subcutáneo, lo cual produce una infiltración de los glóbulos rojos y los leucocitos hacia los tejidos circundantes, así como también las proteínas del plasma que causan edema, congestión y hemorragia en el sitio de la infección. (Mohamed *et al.*, 2008)

Aunque las aeromonas móviles reciben mucha notoriedad como patógenos de peces, es importante tener en cuenta que estas bacterias forman parte de la microflora intestinal de los peces sanos (Trust *et al.* 1974). Por lo tanto, la presencia de estas bacterias, por sí mismo, no es indicativo de la enfermedad y, en consecuencia, el estrés se considera a menudo un factor contribuyente en los brotes de enfermedades causadas por estas bacterias. Estos factores de estrés son comúnmente asociados con los parámetros ambientales y fisiológicos los cuales son adversos para el cultivo intensivo de peces. Esto se refleja en el experimento realizado en bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) por Ventura y Grizzle (1988), quienes indujeron infecciones sistémicas a través del raspado de la piel, entre los bagres, antes de la exposición a la bacteria. Estos investigadores mostraron también que *A. hydrophila* infecta órganos internos a través del tracto digestivo o través de la piel no lesionada en condiciones de hacinamiento (13,1 g de pescado / L) y alta temperatura (24 ° C). Tales infecciones no ocurren cuando se llevaron a cabo en los bagres a una densidad (5,2 g de pescado / L) y una temperatura (18 ° C) más baja.

Además de lo mencionado anteriormente, también se observó en este estudio, un incremento de las células melanóforas en degranulación y de distribución difusa, de manera moderada a severa. Ruane y Komen (2003) afirman que la coloración oscura de la piel de los peces es inducida por hormonas estimuladoras de melanóforos, generalmente se considera un signo de salud deficiente por estar asociado a mortalidad, baja tasa de crecimiento e incremento de cortisol en el suero sanguíneo como indicador de estrés. Los especímenes muestreados, evidenciaron melanososis, lo cual nos indica que

se encontraban en un estado de estrés severo, posiblemente a causa de factores ambientales o patogénicos.

Vega *et al.* (2011) en un experimento en truchas de arcoíris, enfrentó a un grupo de individuos al virus de la necrosis pancreática, dando como consecuencia que el 100% de los peces manifestaron melanosis, concluyéndose que fue inducida a causa del estrés acumulado por la infección.

De los hallazgos encontrados en la piel en este estudio, se sugiere que fueron causados por una bacteria perteneciente al género *Aeromona sp.*, debido a que a la tinción gram se observaron bacterias negativas y las lesiones fueron similares a las mencionadas por otros autores, las cuales podrían haber sido exacerbadas por una pobre calidad de agua del medio donde los alevinos eran criados, careciendo de un sistema de recirculación, siendo este un factor predisponente para generar un severo estrés, lo cual conllevaría a una inmunosupresión, y la susceptibilidad a posibles infecciones bacterianas.

A nivel del músculo esquelético, en el total de los peces, se observaron estructuras parasitarias uninucleadas y en división, sugerentes de ser merontes de *Microsporidium sp.*, habiendo una leve reacción inflamatoria en la periferia, acompañados de trastornos circulatorios, bacterianos y procesos degenerativos en los tejidos periféricos. La confirmación del género *Microsporidium sp.* se comprobó mediante la tinción gram, el cual según Noga (2000), presentan afinidad a la coloración gram positiva. Ferguson (2006), sostiene que la mayoría de los microsporidios con estadios inmaduros parecen producir una leve a nula respuesta inflamatoria y generalmente, son encontrados como hallazgos incidentales en el trabajo de rutina diagnóstica.

Según Ventura y Grizzle (1988), las infecciones sistémicas por *Aeromona sp.* se caracterizan por necrosis difusa en varios órganos internos y la presencia de centros melanomacrófagos. Internamente, el hígado y los riñones son órganos diana de una septicemia aguda. Estos órganos son aparentemente atacados por toxinas bacterianas y pierden su integridad estructural (Huizinga *et al.* 1979).

La presencia de microsporidios, aún en forma escasa a moderada, como de otros patógenos, podría deberse a las condiciones del medio ambiente, manejo, grado de infestación o inmunidad del hospedero (Gonzales y Heredia, 1998).

Sin embargo, Ferguson (2006), afirma también que infecciones de músculo con *Microsporidium sp.* son responsables de muchas enfermedades significativamente económicas, debido a que, estos parásitos producen lesiones macroscópicas extensas y visibles que reducen el valor de los peces.

Lesiones tales, como necrosis muscular y separación de las fibras musculares, halladas en el músculo esquelético de los peces, no relacionadas con la presencia de esporas de *Microsporidium sp.*, se manifestaron en una forma leve a moderada, aunque pueden sugerir probablemente una relación de estas lesiones con deficiencias en niveles de Vitamina E en la dieta. Lovell *et al.* (1984), describió lesiones como severa atrofia y necrosis de las fibras musculares en el bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) alimentadas con dietas de niveles bajos de  $\alpha$ -tocoferol. Murai y Andrews (1974), también describieron cambios histológicos pronunciados en las fibras musculares y distrofia muscular en peces de la misma especie alimentados con bajos niveles de vitamina E, además con la carencia de esta vitamina, en dietas con altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados, llevan a cambios oxidativos en los lípidos (rancidez), si están almacenadas en altas temperaturas y expuestas al oxígeno atmosférico. No se puede afirmar algunas de las posibles causas de las lesiones encontradas a nivel muscular en el presente estudio, para ello es necesario realizar otro tipo de estudio como análisis del alimento. Sin embargo, se podría descartar lesiones asociadas a rancidez de las grasas debido a que no se encontraron además lesiones de necrosis a nivel epitelial del tubo digestivo, lo cual podría sugerir que las lesiones de necrosis y atrofia muscular estarían asociadas a deficiencia de vitamina E.

De todo lo anterior, se puede deducir que las lesiones encontradas en el músculo esquelético, se podrían deber al efecto de causas mixtas, relacionadas a una mala calidad del agua, e infecciosas asociadas a agentes bacterianos y parasitarios. Todo esto debido a que el agua usada en las tinas de alevines no cuenta con un proceso de recirculación, lo cual genera acumulación de desechos orgánicos, favoreciendo un aumento del estrés, el cual influye en el sistema inmunológico y la acumulación de bacterias, lo cual conlleva al animal a ser susceptible a infecciones bacterianas y parasitarias.

No se descarta que las lesiones musculares observadas en los peces de este estudio, estén también asociadas a problemas nutricionales, debido a que en la actualidad no existe comercialmente alimentos balanceados para los estadios juveniles del paiche, siendo alimentados con dietas experimentales a base de alimentos de otras especies, como ocurrió con los especímenes en estudio, los cuales fueron alimentados con una dieta a base de trucha y zooplancton.

Entre las lesiones encontradas en las branquias, se observaron en el total de individuos un proceso regenerativo y circulatorio. Noga (2000), afirma que la hiperplasia e hipertrofia epitelial son las respuestas más comunes ante el daño branquial, los que pueden llevar como consecuencia a fusión de las lamelas y filamentos. Sostiene que las lesiones en branquias tienen un alto grado de especificidad, y pueden ser originadas por diferentes causas tales como bacterias, parásitos o una pobre calidad de agua.

Las lesiones branquiales asociadas a infestaciones parasitarias varían según el agente causal, el huésped y la intensidad de la invasión. Muchos parásitos, como los crustáceos *Ichthyophthirius multifiliis* y la gloquidia de los mejillones, son agentes primarios pero muchos otros invaden las lesiones crónicas producto de una irritación por amoníaco o por partículas en suspensión (Kinkelin *et al.*, 1991)

Kinkelin *et al.*, (1991) menciona que contaminantes químicos irritantes, como los metales pesados y ciertos pesticidas en bajas concentraciones u otras sustancias, como el amoníaco o el dicloro difenil tricloroetano (DDT), producen una hiperplasia del epitelio branquial que conduce a cambios de proliferación durante largos períodos, los cuales normalmente son imposibles de distinguir de los cambios proliferativos que produce la irritación ejercida por los cuerpos sólidos en suspensión. Según Noga (2000) la intoxicación crónica con amonio se encuentra asociada con una hiperplasia e hipertrofia del epitelio branquial.

En el presente estudio, a nivel de las branquias, no se encontraron parásitos, ni indicios de agentes bacterianos, por lo que las lesiones son sugerentes de ser producidas

por una pobre calidad de agua. Esto puede ser explicado, debido a posibles fallas en el manejo de limpieza de las tinas, lo cual se ve empeorado por la falta de un sistema de recirculación.

Los hallazgos a nivel hepático, estuvieron relacionados a procesos degenerativos, inflamatorios y circulatorios en la totalidad de los especímenes, así como la presencia de bacterias gram negativas en algunos. Huizinga *et al.* (1979), nos menciona que el hígado y el riñon son los principales órganos diana en una infección por *Aeromonas sp.* Según Noga (2000), en septicemias causadas por *Aeromona sp.* se observa necrosis del tejido renal, así como la presencia de melanina y lipofucsina por la ruptura de los centros melanomacrófagos. De los hallazgos encontrados, se sugiere que las lesiones fueron asociadas a un proceso infeccioso de origen bacteriano asociado a *Aeromonas sp.*, corroborada por el tipo de lesiones y las características de las bacterias encontradas.

Los hallazgos a nivel renal, fueron en su mayoría trastornos degenerativos, de forma leve a moderada, observados en casi la totalidad de los especímenes, y evidencia de bacterias gram negativas en algunos. Según Hibiya *et al.* (1982) la degeneración hidrópica antecede a la presentación de la degeneración hialina y la excesiva acumulación hialina podría conllevar a la necrosis del epitelio, evidenciándose por la vacuolización del citoplasma y la picnosis.

Se ha publicado mucho sobre los cambios patológicos en los túbulos renales de los peces, donde se menciona que algunas bacterias y parásitos pueden tener un efecto patológico directo en el túbulo renal, así mismo, la exposición a metales pesados o productos químicos agrícolas también puede afectar directamente el túbulo mediante la promoción de anomalías metabólicas. (Hibiya *et al.* 1982). Según Ferguson (2006), la necrosis inducida por el hexaclorobutadieno (HCBd) en goldfish, provoca degeneración hidrópica (principalmente en el segmento 2,3 del túbulo proximal).

En la totalidad de los riñones se observaron los centros melanomacrófagos, ubicados próximos y dentro de las células degeneradas y necrosadas. Estas lesiones pueden estar relacionadas a la presencia de algún proceso infeccioso, ya que los melanomacrófagos son células de la respuesta inmunológica características de los teleósteos, las cuales aumentan en número y medida y se tornan más oscuros en procesos de infección

(Ferguson, 2006). Sin embargo, es posible también que el aumento de melanomacrófagos sea debido a la calidad del agua (Agius y Roberts, 2003).

Verján (2002), reportó en un estudio histopatológico en un “paco” (*Pyaractus brachypomus*) como una alteración prevalente, el incremento de centros melanomacrófagos en el riñón (75.8%) en 263 animales muestreados.

Del trabajo realizado en el presente estudio, se deduce que las lesiones encontradas en el riñón, se deben al efecto de causas mixtas, relacionadas a una mala calidad del agua. E infecciosas asociadas a bacterias, debido a que el agua usada en las tinas de alevines no tenía un proceso de recirculación, provocando la acumulación de desechos orgánicos y favoreciendo el crecimiento bacteriano.

En las lesiones encontradas en el intestino, se evidenció una leve a moderada hiperplasia del epitelio, estas lesiones puede ser producidas por un periodo de ayuno prolongado o una situación de estrés, generándose cambios en la permeabilidad intestinal, este cambio causa un daño a la mucosa intestinal. (Farhadi *et al.*, 2003; Lambert, 2009). Así mismo la hiperplasia de los enterocitos y células mucosas pueden ser consecuencia de la presencia constante de parásitos en la mucosa (Jubb *et al.*, 2007). En este estudio, la hiperplasia de los enterocitos podría ser explicado debido a que los peces tuvieron una situación de stress por una mala calidad de agua.



## VI. CONCLUSIONES

1. Las lesiones encontradas en los diferentes tejidos de alevinos de paiche (*Arapaima gigas*), están relacionadas a la mala calidad del agua.
2. Se determinaron lesiones asociadas a causas infecciosas de tipo bacteriano y parasitario. Siendo las bacterias gram negativas así como los merontes de *Microsporidium sp.* los más frecuentemente determinados en diversos tejidos.
3. Se determinaron lesiones asociadas a causas no infecciosas, relacionadas a una degeneración a nivel muscular, sugerentes de ser causadas por un déficit nutricional.

## **VII. RECOMENDACIONES**

1. Los centros de crianza de paiche deberían contar con sistemas de monitoreo que incluyan una evaluación histológica periódica que permita identificar diferentes agentes infecciosos y detectarlos en forma temprana, para así evitar un incremento de la infección y posibles pérdidas por mortalidad.
2. Realizar estudios que permitan ver la asociación de las lesiones de tipo no infeccioso con la calidad el agua.
3. Realizar estudios nutricionales, que generen alimentos adecuados para la crianza intensiva del paiche, en sus diferentes etapas de desarrollo.

## VIII. LITERATURA CITADA

1. **Agius, C., & Roberts, R. J. (2003).** Melanomacrophage centres and their role in fish pathology. *Journal of Fish Diseases*, 26(9), 499-509.
2. **Alfaro, M. R., Bocanegra, F. A., & García, M. V. (1999).** Manual de piscicultura del paiche (*Arapaima gigas* Cuvier). Tratado de Cooperación Amazónica–Secretaría pro Tempore. Caracas, Venezuela.
3. **Altringham, J. D., & Ellerby, D. J. (1999).** Fish swimming: patterns in muscle function. *Journal of Experimental Biology*, 202(23), 3397-3403.
4. **Amlacher, E. (1964).** Manual de enfermedades de los peces. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
5. **Anderson, C.L., Canning E.U., & Okamura B. (1999).** 18S RDNA sequences indicate that PKX organism parasitizes *Bryozoa*. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists*, 19, 94-97.
6. **Aoki, T. (1999).** Motile Aeromonads. (*Aeromonas hydrophila*). En: PTK Woo & DW Bruno (eds.): *Fish diseases and disorders*, Volume 3: Viral, bacterial and fungal infections, p 427-453.

7. **Araújo, C. S. O., Gomes, A. L., Tavares-Dias, M., Andrade, S. M. S., Belem-Costa, A., Borges, J. T., Queiroz, M. N., & Barbosa, M. (2009).** Parasitic infections in pirarucu fry, *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimatidae) kept in a semi-intensive fish farm in Central Amazon, Brazil. *Veterinarski Archives*, 79, 499-507.
8. **Atencio, V. J., Hernandez, J., & Pardo, S. C. (2008).** Descripción morfológica del tubo digestivo de juveniles de rubio *Salminus affinis* (Pisces: Characidae). *Acta Biológica Colombiana*, 13 (3), 99-112.
9. **Austin, B. & Austin, D.A. (1987).** Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish, Ellis Horwood, Toronto. 1,111–195.
10. **Barassa, B., Cordeiro, N. S., & Arana, S. (2003).** A new species of Henneguya, a gill parasite of *Astyanax altiparanae* (Pisces: Characidae) from Brazil, with comments on histopathology and seasonality. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98(6), 761-765.
11. **Burri, L., Williams, B. A., Bursac, D., Lithgow, T., & Keeling, P. J. (2006).** *Microsporidian mitosomes* retain elements of the general mitochondrial targeting system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(43), 15916-15920.
12. **Campo, L. (2013).** Historia Biológica del Paiche o Pirarucu *Arapaima gigas* (Cuvier) y Bases para su Cultivo en la Amazonía Iquitos-Perú.
13. **Canning, E. U., Curry, A., & Overstreet, R. M. (2002).** Ultrastructure of *Tuzetia weidneri* sp. n. (Microsporidia: Tuzetiidae) in Skeletal Muscle of *Litopenaeus setiferus* and *Farfantepenaeus aztecus* (Crustacea: Decapoda) and New Data on *Perezia nelsoni* (Microsporidia: Pereziiidae) in *L. setiferus*. *Acta Protozoologica*, 41(1), 63-77.
14. **Canning, E. U., Okamura, B., & Curry, A. (1996).** Development of a myxozoan parasite *Tetracapsula bryozoides* gen. n. et sp. n. in *Cristatella mucedo* (Bryozoa: Phylactolaemata). *Folia parasitologica*, 43(4), 249-261.
15. **Cavero, B. A. S., Pereira-Filho, M., Roubach, R., Ituassú, D. R., Gandra, A. L., & Crescêncio, R. (2003).** Efeito da densidade de estocagem na homogeneidade do crescimento de juvenis de pirarucu em ambiente confinado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38(1), 103-107.

16. **Cipriano, R. C., Bullock, G. L., & Pyle, S. W. (1984).** *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish.
17. **Corral, M. L., Grizel, H., Montes, J., & Polanco, E. (2000).** La acuicultura: Biología, regulación, fomento, nuevas tendencias y estrategia comercial. Tomo I: Análisis del desarrollo de los cultivos: medio, agua y especies. Fundación Alfonso Martín Escudero, Madrid.
18. **Cowey, C. B., & Roberts, R. J. (1981).** Patología de la nutrición de los teleósteos. RJ Roberts (ed.): Patología de los peces. Madrid, Editorial Mundi-Prensa. p 249-261.
19. **Dalmo, R. A., Ingebrigtsen, K., & Bogwald, J. (1997).** Non-specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). *Journal of Fish Diseases*, 20(4), 241-273.
20. **Davidson, G. A., Ellis, A. E., & Secombes, C. J. (1992).** Route of immunization influences the generation of antibody secreting cells in the gut of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Developmental and comparative immunology*, 17(4), 373-376.
21. **De Queiroz, H. L., Padoch, C., Ayres, J. M., Pinedo-Vasquez, M., & Henderson, A. (1999).** Artisanal fisheries of pirarucu at the Mamirauá Ecological Station. Várzea: diversity, development, and conservation of Amazonia's whitewater floodplains., 83-99
22. **Desser, S. S., Lom, J., & Dyková, I. (1986).** Developmental stages of *Sphaerospora ohlmacheri* (Whinery, 1893) n. comb. (Myxozoa: Myxosporea) in the renal tubules of bullfrog tadpoles, *Rana catesbeiana*, from Lake of two rivers, Algonquin Park, Ontario. *Canadian journal of zoology*, 64(10), 2213-2217.
23. **Dezon de Fogel, D. E., Fuentes Zambrano, J. L., & Gonzalez, E. I. (2004).** Parasitosis en *Colossoma macropomum* (Pisces: Characidae) cultivado, ocasionada por los protozoos *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet) y *Piscinoodinium pillulare* (Schäperclaus). *SABER*, 16(1), 3-8.
24. **Eiras, J. C. (1993)** Elementos de Ictioparasitología. Fundação Eng. Antonio de Almeida, Brasil
25. **Eiras, J. C., Molnár, K., & Lu, Y. S. (2005).** Synopsis of the species of *Myxobolus Bütschli*, 1882 (Myxozoa: Myxosporea: Myxobolidae). *Systematic parasitology*, 61(1), 1-46.

26. **Ellerby, D. J., Altringham, J. D., Williams, T., & Block, B. A. (2000).** Slow muscle function of Pacific bonito (*Sarda chiliensis*) during steady swimming. *Journal of Experimental Biology*, 203(13), 2001-2013.
27. **Elliottt, D. G. (2000).** Integumentary System. In: G. Ostrander. *The Laboratory Fish*. Academic, Washington, DC, USA. p. 271-300.
28. **Ellis, A. (1981).** Inmunología de los teleósteos. En: RJ Roberts (ed.): *Patología de los peces*. Madrid, Editorial Mundi-Prensa. p. 103-117.
29. **Evans, D. H., Piermarini, P. M., & Choe, K. P. (2005).** The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological Reviews*, 85(1), 97-177.
30. **Evans, D. H., Piermarini, P. M., & Potts, W. T. W. (1999).** Ionic transport in the fish gill epithelium. *Journal of Experimental Zoology*, 283(7), 641-652.
31. **Ewing, M. S., & Kocan, K. M. (1992).** Invasion and development strategies of *Ichthyophthirius multifiliis*, a parasitic ciliate of fish. *Parasitology Today*, 8(6), 204-208.
32. **Farhadi, A., Banan, A. L. I., Fields, J., & Keshavarzian, A. L. I. (2003).** Intestinal barrier: an interface between health and disease. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 18(5), 479-497.
33. **Ferguson, H. W. (2006).** *Systemic Pathology of Fish*. Second Edition. Scotian Press.
34. **Fernández, A. B., Ruiz, I., & de Blas, I. (2002).** El sistema inmune de los teleósteos (I): Respuesta inmune inespecífica. *Revista AquaTIC [serial online]*, 2002a [Disponible 29 de octubre de 2007], 17, 15.
35. **Fernández, A. B., Ruiz, I., & de Blas, I. (2002).** El sistema inmune de los teleósteos (II): Respuesta inmune inespecífica. *Revista AquaTIC [serial online]*, 2002b [Disponible 29 de octubre de 2007], 17, 15.
36. **Flores J. & R. Flores. (2003).** Monogeneos, parásitos de peces en México: estudio recapitulativo. *Téc. Pecu. Méx.* 41(2): 175-192.
37. **Flores Crespo, J., & Flores Crespo, R. (2012).** Monogeneos, parásitos de peces en México: estudio recapitulativo. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 41(2).
38. **Flores-Crespo, J., Flores, C. R., Ibarra. V. F., Vera, M. Y., Vasquez, P. C. (1995).** Evaluacion de quimioterapéuticos contra la ciclidogiriasis en la tilapia (*Oreochromis hornurum*) en México. *Rev. Lat. De Microbiol.* 37(2): 179-187.

39. **Fontenele, O. (1948).** Contribuicao para o conhecimento da biologia do pirarucu *Arapaima gigas* (Cuvier), em cativeiro (Actinopterygii, osteoglossidae) [Ceara, Brasil].
40. **Franco, R. L. C. 2003.** Ecología y seguimiento, manejo de postlarvas, alevinos y juveniles de *Arapaima gigas* (CUVIER, 1817) (Pisces: Arapaimidae) en condiciones de cautiverio. Trabajo de grado, Programa de Biología. Universidad de la Amazonia Florencia-Caquetá. 2003.
41. **Franco-Rojas, H. H. (2007).** Cría y producción de pirarucú en cautiverio. Experiencias en el Piedemonte Caqueteño. Universidad de la Amazonia, Florencia (Caquetá-Colombia). 50p.
42. **Garcia, L. S. (2002).** Laboratory identification of the microsporidia. Journal of clinical microbiology, 40(6), 1892-1901.
43. **González, J., & Heredia, B. (1998).** El cultivo de la cachama (*Colossoma macropomum*). Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Centro de Investigaciones del Estado Guárico. 2da edición. Maracay.
44. **Grazzle, J. (1976).** Anatomy and Histology of the Channel Catfish. Agricultural Experiment Station. Auburn University, Alabama, USA. 94 p. Journal of Experimental Biology, 202, 3397–3403.
45. **Guerra, H. (2002).** Manual de producción y manejo de alevinos de Paiche. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana. IIAP 20 años. EdiT. Pueblo Libre, Lima, Perú. 98p.
46. **Heppell, J., & Davis, H. L. (2000).** Application of DNA vaccine technology to aquaculture. Advanced drug delivery reviews, 43(1), 29-43.
47. **Hibiya, T., Yokote, M., Oguri, M., Sato, H., Takashima, F., & Aida, K. (1982).** An atlas of fish histology. Normal and pathological features. Gustav Fischer Verlag. 1(1), 5-125.
48. **Huizinga, H. W., Esch, G. W., & Hazen, T. C. (1979).** Histopathology of red-sore disease (*Aeromonas hydrophila*) in naturally and experimentally infected largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepede). Journal of Fish Diseases, 2(4), 263-277.
49. **Hurtado, A. (1997).** Aspectos del *Arapaima gigas* en el sistema de Várzea en el municipio de Puerto Nariño, Amazonas. Trabajo de grado, Departamento de Biología. Universidad del Valle, 84p. Santiago de Cali-Colombia.

50. **Iversen, E. S., Rutherford, E. S., Bannerot, S. P. & Jory, D. E. (1987).** Biological data on Berry Islands (Bahamas) queen conchs, *Strombus gigas*, with mariculture and fisheries management implications. Fish. Bull., U.S. 85, 299-310.
51. **Jones, S. R. (2001).** The occurrence and mechanisms of innate immunity against parasites in fish. Developmental & Comparative Immunology, 25(8), 841-852.
52. **Jubb, K. V. F., Kennedy, P. C., & Palmer, N. (1970).** Pathology of domestic animals (Vol. 2, p. 344). New York: Academic Press.
53. **Kallert, D. M., Eszterbauer, E., Erséus, C., El-Matbouli, M., & Haas, W. (2005).** Life cycle studies of *Myxobolus parviformis* sp. n. (Myxozoa: Myxobolidae) from bream. Diseases of aquatic organisms, 66(3), 233.
54. **Karunasagar, I. (2005).** Marine Microbiology: Facets & Opportunities; National Institute of Oceanography, Goa, 121-134pp.
55. **Kiessling, A., Ruohonem K. & Bjornevik M. (2006).** Muscle fibre growth and quality in fish. Arch Tierz Dummerstorf, 49, 137-146.
56. **Kinkelin, P. D., Michel, C., & Ghittino, P. (1991).** Tratado de las enfermedades de los peces. Zaragoza: Acribia, 353.
57. **Kozińska, A., Figueras, M. J., Chacon, M. R., & Soler, L. (2002).** Phenotypic characteristics and pathogenicity of *Aeromonas genomospecies* isolated from common carp (*Cyprinus carpio* L.). Journal of applied microbiology, 93(6), 1034-1041.
58. **Kudo, R. R. (1920).** Studies on Myxosporidia: a synopsis of genera and species of Myxosporidia; with 25 plates and 2 textfigures. University of Illinois. 5, 1-265.
59. **Lagler, K. F., Bardach, J. E., Miller, R. R. & May-Passino D. R. (1984).** Ictiología. 1ª edición en español. AGT Editor. México. 489 p.
60. **Lambert, G. P. (2009).** Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. J Anim Sci, 87(14 Suppl), E101-E108.
61. **Le Guellec, D., Morvan-Dubois, G., & Sire, J. Y. (2004).** Skin development in bony fish with particular emphasis on collagen deposition in the dermis of the zebrafish (*Danio rerio*). International Journal of Developmental Biology, 48, 217-232.
62. **Leibovitz, L., & Riis, R. C. (1980).** A viral disease of aquarium fish. Journal of the American Veterinary Medical Association, 177(5), 414-416.



63. **Lightner, D. V. (1996).** A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA.USA.
64. **Lin, S. H., Davidson, G. A., Secombes, C. J., & Ellis, A. E. (2000).** Use of a lipid-emulsion carrier for immunisation of dab (*Limanda limanda*) by bath and oral routes: an assessment of systemic and mucosal antibody responses. *Aquaculture*, 181(1), 11-24.
65. **Lodemel, J. B., Mayhew, T. M., Myklebust, R., Olsen, R. E., Espelid, S., & Ringo, E. (2001).** Effect of three dietary oils on disease susceptibility in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) during cohabitant challenge with *Aeromonas salmonicida* ssp. *Aquaculture Research*, 32(12), 935-945.
66. **Lom, J., Dyková, I., & Woo, P. T. K. (1995).** Myxosporea (Phylum Myxozoa). Fish diseases and disorders. Volume 1: protozoan and metazoan infections., 97-148.
67. **Lom, J., & Dyková, I. (2006).** Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. *Folia parasitologica*, 53(1), 1.
68. **Longshaw, M., Feist, S. W., Canning, E. U., & Okamura, B. (1999).** First identification of PKX in bryozoans from the United Kingdom-Molecular evidence. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 19(4), 146-148.
69. **Lovell, R. T., Miyazaki, T., & Rabegnator, S. (1984).** Requirement for alpha-tocopherol by channel catfish fed diets low in polyunsaturated triglycerides. *The Journal of nutrition*, 114(5), 894-901.
70. **MacInnes, J. I., Trust, T. J., & Crosa, J. H. (1979).** Deoxyribonucleic acid relationships among members of the genus *Aeromonas*. *Canadian Journal of Microbiology*, 25(5), 579-586.
71. **Marcogliese, D. J., Ball, M., & Lankester, M. W. (2001).** Potential impacts of clearcutting on parasites of minnows in small boreal lakes. *Folia parasitologica*, 48(4), 269-274.
72. **Martins, M. L., Moraes, F. R., Miyazaki, D. M. Y., Brum, C. D., Onaka, E. M., Fenerick, J. J., & Bozzo, F. R. (2002).** Alternative treatment for *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) infection in cultivated pacu, *Piaractus*

- mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae) in Brazil and its haematological effects. *Parasite*, 9(2), 175-180.
73. **Matthews, P., Chu-Koo, F., Celso de Oliveira, J., Silva, A., Bezerra, A. y Tello, S. (2007).** Fauna ectoparasitaria en alevinos de paiche *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) cultivados en el Centro de Investigaciones de Quistococha, Loreto, Perú. *IIAP*, 16(1-2), 3-27.
  74. **Maki, J. L., Brown, C. C., & Dickerson, H. W. (2001).** Occurrence of *Ichthyophthirius multifiliis* within the peritoneal cavities of infected channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Diseases of aquatic organisms*, 44(1), 41-45.
  75. **Melfi, L. (2003).** "*Arapaima gigas*" (On-line), Animal Diversity Web. Accessed November 04, 2013 at [http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Arapaima\\_gigas/](http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Arapaima_gigas/)
  76. **Meyer, C., Ganter, M., Korting, W., & Steinhagen, D. (2002).** Effects of a parasite-induced nephritis on osmoregulation in the common carp *Cyprinus carpio*. *Diseases of aquatic organisms*, 50(2), 127-135.
  77. **Mohamed, E., & Mohamed, M. (2008).** Bacterial causes of skin ulcers affection in *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) with special referances to its control. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture 2008- 1420-1436
  78. **Moran, J. D. W., Whitaker, D. J., & Kent, M. L. (1999).** A review of the myxosporean genus *Kudoa* Meglitsch, 1947, and its impact on the international aquaculture industry and commercial fisheries. *Aquaculture*, 172(1), 163-196.
  79. **Murai, T., & Andrews, J. W. (1974).** Interactions of dietary  $\alpha$ -tocopherol, oxidized menhaden oil and ethoxyquin on channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *The Journal of nutrition*, 104(11), 1416-1431.
  80. **Noga, E. J. (2000).** Fish disease: diagnosis and treatment. John Wiley & Sons.
  81. **Nagase, A., Suarez J., & Rojas, D. (2005).** Estudio de manejo de recursos pesqueros para su incorporación en el sistema de desarrollo económico integral sostenible del área de trabajo de CIPCA norte. Informe final de consultoría. Centro de Investigación y Promoción del Campesinado. 1, 1-57.
  82. **Okamura, B. (1996).** Occurrence, prevalence, and effects of the myxozoan *Tetracapsula bryozoides* Canning, Okamura and Curry, 1996, parasitic in the freshwater bryozoan *Cristatella mucedo* Cuvier (Bryozoa, Phylactolaemata). *Folia Parasitologica*, 43, 262-266.

83. **Olafsen, J. A., & Hansen, G. H. (1992).** Intact antigen uptake in intestinal epithelial cells of marine fish larvae. *Journal of Fish Biology*, 40(2), 141-156.
84. **Orvay, F. C. (1993).** Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción (Vol. 4). Edicions Universitat Barcelona.
85. **Ottensen, O. H. & Olafsen J. A. (1997).** Ontogenetic development and composition of the mucous cells and the occurrence of succular cells in the epidermis of Atlantic halibut. *J. Fish Biol*, 50, 620-633.
86. **Padilla, P., Ismiño, R., Alcántara, F., & Tello, S. (2003).** Producción y manejo de alevinos de paiche en ambientes controlados. Seminario Taller Internacional de Manejo de paiche o Pirarucu. Iquitos, Perú, 125-141.
87. **Paniagua, C., Rivero, O., Anguita, J., & Naharro, G. (1990).** Pathogenicity factors and virulence for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) or motile *Aeromonas sp.* isolated from a river. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(2), 350-355.
88. **Parker, T. J., & Haswell, W. A. (1987).** Zoología. Cordados (Vol. 2). Reverte.
89. **Penagos, G., Barato, P. y Iregui, C. (2009).** Sistema inmune y vacunación de peces. *Acta Biol Colomb*, 14(1), 509-512.
90. **Ramos Espinoza, F. C. (2007).** Evaluación de lesiones histopatológicas y aislamiento bacteriológico de algunos de los principales tejidos de gamitanas (*Colossoma macropomum*). Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 72p.
91. **Rebaza, M., Alcántara, F., & Valdivieso, M. (1999).** Manual de Piscicultura del paiche *Arapaima gigas* Cuvier. SPT-TCA. IIAP. Caracas, Venezuela, pág. 7-37.
92. **Reimschuessel R., E. May, R. Bennett & M. Lypsky (1988).** Necropsy examination of fish. *Vet. Clin. North Am.: Small Animal Practice*. 18: 427-433.
93. **Reimschuessel R., Bennett R.O. y M. Lipsky (1992).** Communications. A Classification System for Histological Lesions. *Journal of Aquatic Animal Health*. 4:135-143.
94. **Reimschuessel, R. (2001).** A fish model of renal regeneration and development. *Ilar Journal*, 42(4), 285-291.
95. **Reite, O. B. (2005).** The rodlet cells of teleostean fish: their potential role in host defence in relation to the role of mast cells/eosinophilic granule cells. *Fish & shellfish immunology*, 19(3), 253-267.

96. **Renon, P., Camisasca, S., Zana, C., & Foschini, S. (1996).** Rilevamento di mixosporidi in filetti di merluzzo congelati importati. *Industrie alimentari*, 35(348), 510-514.
  
97. **Rescan, P. Y., Collet, B., Ralliere, C., Cauty, C., Delalande, J. M., Goldspink, G., & Fauconneau, B. (2001).** Red and white muscle development in the trout (*Oncorhynchus mykiss*) as shown by in situ hybridisation of fast and slow myosin heavy chain transcripts. *Journal of Experimental Biology*, 204(12), 2097-2101.
  
98. **Richards, R. H. & Roberts R. J. (1981).** Bacteriología de los teleósteos. En: RJ Roberts (ed.): *Patología de los peces*. Madrid, Editorial Mundi-Prensa. p 209-233.
  
99. **Ringo, E., Lodemel, J. B., Myklebust, R., Kaino, T., Mayhew, T. M., & Olsen, R. E. (2001).** Epithelium-associated bacteria in the gastrointestinal tract of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). An electron microscopical study. *Journal of Applied Microbiology*, 90(2), 294-300.
  
100. **Ringo, E., Mikkelsen, H., Kaino, T., Olsen, R. E., Mayhew, T. M., & Myklebust, R. (2006).** Endocytosis of indigenous bacteria and cell damage caused by *Vibrio anguillarum* in the foregut and hindgut of spotted wolffish (*Anarhichas minor* Olafsen) fry: an electron microscopical study. *Aquaculture research*, 37(6), 647-651.
  
101. **Roberts, R. J., Vilas, J. M. T., Shepherd, C. J., & Millán, L. M. (1980).** Enfermedades de la trucha y del salmón. Acribia.
  
102. **Rocha, E., Monteiro, R. A., & Pereira, C. A. (1994).** The liver of the brown trout, *Salmo trutta fario*: a light and electron microscope study. *Journal of anatomy*, 185(Pt 2), 241.
  
103. **Rohde, K. (1993).** Ecology of marine parasites: an introduction to marine parasitology (No. Ed. 2). Cab International.
  
104. **Rojas, H. H. F., & Florencia, C. (2005).** Contribución al conocimiento de la reproducción del Pirarucú *Arapaima gigas* (Cuvier, 1817) (Pisces: Arapaimidae) en cautiverio. Trabajo de grado, Programa de Biología. Universidad de la Amazonia Florencia, Caquetá. 53p.
  
105. **Rosenthal, S., Sandoval, N., Gavidia, C., & Tabacchi, L. (2013).** Frecuencia de lipidosis hepática en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de fase juvenil en

- una piscigranja de la sierra central del Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 24(1), 118-124.
106. **Ross, L. G., Ross, B., & Ross, B. (2008).** Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals.
  107. **Ruane, N. M., & Komen, H. (2003).** Measuring cortisol in the water as an indicator of stress caused by increased loading density in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 218(1), 685-693.
  108. **Ruiz, I., Fernández, A. B., & de Blas, I. (2003).** El sistema inmune de los teleósteos (III): Respuesta inmune específica. *Revista AquaTIC*. 2003a, 18, 33-38.
  109. **Scholz, T., Salgado-Maldonado, G. (1999).** Helmintos parásitos de peces como colonizadores: el caso de *Centrocestus formosanus* (Digenea: Heterophyllidae) en México. XIV Congreso latinoamericano de parasitología. 1:29.
  110. **Schmachtenberg, O. (2007).** Epithelial sentinels or protozoan parasites Studies on isolated rodlet cells on the 100th anniversary of an enigma. *Rev Chil Hist Nat*, 80, 55-62.
  111. **Shao, Z. J. (2001).** Aquaculture pharmaceuticals and biologicals: current perspectives and future possibilities. *Advanced drug delivery reviews*, 50(3), 229-243.
  112. **Shotts Jr, E. B., & Starliper, C. E. (1999).** Flavobacterial diseases: columnaris disease, cold-water disease and bacterial gill disease.
  113. **Soulsby, E. J. (1987).** Parasitología y enfermedades parasitarias (pp. 40-44).
  114. **Souza, M. L. R., Dourado, D. M., Machado, S. D., Buccini, D. F., Jardim, M. I. A., Matias, R., Correia, C. & Ferreira, I. C. (2003).** Análise da pele de três espécies de peixes: histologia, morfometria e testes de resistência. *Rev. Bras. Zootec*, 32, 1551-1559.
  115. **St Louis-Cormier, E. A., Osterland, C. K., & Anderson, P. D. (1985).** Evidence for a cutaneous secretory immune system in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Developmental & Comparative Immunology*, 8(1), 71-80.
  116. **Stone, L. M., Finger, T. E., Tam, P. P., & Tan, S. S. (1995).** Taste receptor cells arise from local epithelium, not neurogenic ectoderm. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(6), 1916-1920.
  117. **Trust, T. J., Bull, L. M., Currie, B. R., & Buckley, J. T. (1974).** Obligate anaerobic bacteria in the gastrointestinal microflora of the grass carp

- (*Ctenopharyngodon idella*), goldfish (*Carassius auratus*), and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Journal of the Fisheries Research Board of Canada. 36, 1174 - 1179.
118. **Tyagi, R. & Shukla, A. N. (2002).** Encyclopedia of fishes. Series anatomy of fishes. Fifth Edition. Nueva Delhi, India. 181-187.
  119. **Vandenberg, G. W. (2004).** Oral vaccines for finfish: academic theory or commercial reality. Animal Health Research Reviews, 5(02), 301-304.
  120. **Van Duijn Jr, C. (1967).** Diseases of fishes. Diseases of Fishes.
  121. **Vega, L. F., Montes de Oca, R., Valladares, B., Martínez-Castañeda, S., Alonso, U., Enríquez, R., & Ortega, C. (2011).** Evaluación de la respuesta clínico-patológica e inmune humoral en crías de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) infectadas experimentalmente con el virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNV). Archivos de medicina veterinaria, 43(1), 27-34.
  122. **Ventura, M. T., & Grizzle, J. M. (1988).** Lesions associated with natural and experimental infections of *Aeromonas hydrophila* in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). Journal of Fish Diseases, 11(5), 397-407.
  123. **Verján, N. (2002).** Sistematización y caracterización de las enfermedades de la cachaza blanca (*Piaractus brachipomus*) en algunas regiones de los Llanos Orientales y estudio de la Enfermedad Septicémica (Doctoral dissertation, Tesis de Maestría en Salud y Producción Animal. Universidad Nacional de Colombia).
  124. **Vicentini, C. A., Franceschini-Vicentini, I. B., Bombonato, M. T. S., Bertolucci, B., Lima, S. G., & Santos, A. S. (2005).** Morphological study of the liver in the teleost *Oreochromis niloticus*. Int. J. Morphol, 23(3), 211-5.
  125. **Webb, J. F. (2000).** Mechanosensory lateral line: Microscopic anatomy and development. G. Ostrander. The Laboratory Fish. Academic, Washington, USA. [Links], 463-468.
  126. **Weidner, E., & Overstreet, R. M. (1979).** Sporogenesis of a myxosporidan with motile spores. Cell and tissue research, 201(3), 331-342.
  127. **Wolf, K., & Markiw, M. E. (1984).** Biology contravenes taxonomy in the Myxozoa: new discoveries show alternation of invertebrate and vertebrate hosts. Science, 225(4669), 1449-1452.



## **IX. APÉNDICE**

### **ANEXO 1: Procesamiento de las muestras.**

#### **A. Fijación de muestras**

Inmediatamente de obtenidas las muestras se procedieron a fijar cada una de ellas en formalina tamponada al 10% para conservar la estructura morfológica y química de las células y tejidos que permite realizar posteriormente los procedimientos de coloración

#### **B. Deshidratación**

Se realiza con el objetivo de eliminar el agua intra y extracelular para lo cual debemos deshidratarlos sumergiéndolos en líquidos anhidros, ávidos de agua. Se utilizaron alcoholes de distinta concentración

- Alcohol etílico al 70 por 100 1 hora
- Alcohol etílico al 80 por 100 1 hora
- Alcohol etílico al 95 por 100 1 hora
- Alcohol etílico al 100 por 100 1 hora
- Alcohol etílico al 100 por 100 1 hora
- Alcohol etílico al 100 por 100 1 hora



### C. Aclaración

Este procedimiento permite que el alcohol de los tejidos sea reemplazado por un líquido que disuelva la parafina con la cual el tejido va a ser impregnado y, tiene la propiedad de volver transparente a las muestras, para ello se utilizó el xileno continuando con el siguiente proceso:

- Xileno 1 1 hora
- Xileno 2 1 hora
- Xileno 3 1 hora

### D. Inclusión

Este proceso comprende la impregnación de las muestras con un medio que llene todas las cavidades naturales, espacios e intersticios tisulares y aun los espacios intracelulares y, que proporcione la consistencia firme, necesaria para hacer los cortes bastantes delgados sin provocar distorsión, otra ventaja más es la maniobra de encerrarlos en un bloque de parafina permitiendo manejar y fijar la muestra al micrótomos sin dañar la muestra, siendo el método de la parafina el más simple y el más común que se utilizó para lograr el objetivo siguiendo el siguiente proceso:

- Parafina líquida I 1 hora
- Parafina líquida II 2 horas

Posteriormente cada una de las muestras se colocaron en el centro de un molde con parafina líquida, se dejó reposar en el medio ambiente hasta que se solidifique.

### E. Corte de la muestra

Para el corte de las muestras se utilizó el micrótopo de deslizamiento verificando que el micrótopo este ajustado para el grosor de 5µm - 6µm, se colocó el bloque de parafina conteniendo la muestra y se comenzó el corte con impulsos regulares.

Luego se tomaron las láminas de parafina cortadas con el micrótopo conteniendo las muestras y se hizo flotar en un recipiente de agua a temperatura ambiente para quitar el excedente de parafina, se introdujo al recipiente una laminilla, se colocó la muestra en ella y se levantó suavemente con un movimiento uniforme y al tocar el borde de la muestra, esa se adhirió a ella y, se dejó escurrir la laminilla con la muestra impregnada a un ángulo de 60 grados aproximadamente durante dos a cinco minutos.

#### F. Secado de los cortes

Una vez los cortes de las muestras se colocaron en una estufa a temperaturas de 37 °C a 40 °C durante toda la noche. El secado permite que desaparezca toda huella de agua entre el corte y el portaobjetos.

#### G. Tinción de cortes

Se utilizó la tinción más utilizada en histología que es de Hematoxilina - Eosina (H&E) que son colorantes de contraste. La hematoxilina, que permite observar las estructuras físicas del núcleo, y la eosina, que permite distinguir los detalles del citoplasma de las células.

En primer lugar los cortes se sumergieron en el primer baño de xileno durante tres minutos. Se pasaron el segundo baño de xileno por dos minutos, se dejó escurrir el exceso de solución inclinando el soporte y dejándolo en contacto con el borde del recipiente. Luego se llevó al primer baño de alcohol etílico absoluto durante dos minutos. Posteriormente se sumergieron a un baño de alcohol etílico de 95° durante dos minutos.

Sucesivamente se sumergieron en alcohol de 70° por uno a dos minutos. Una vez realizados los baños con alcohol se procedió a hidratar los cortes sumergiéndolos en un frasco con agua destilada por uno a dos minutos. Luego se realizó la tinción durante 5 minutos con hematoxilina. Sucesivamente se aclaró sumergiendo la preparación tres veces en alcohol ácido al 1 por 100. Para finalmente enjuagar en agua.

Se colocaron las muestras en carbonato de litio al 1 por 100 por 30 segundos para azular.

Se enjuagó con agua.

Se procedió a teñir con Eosina durante 30 segundos.

Se enjuago rápidamente con alcohol al 80 por 100

Se lavó con agua por 30 segundos.

Se procedió a deshidratar en tres baños sucesivos de alcohol etílico absoluto de 20 segundos cada uno.

Se pasó por tres baños de xileno de 15 segundos cada uno.

Finalmente se procedió a montar la preparación con bálsamo de Canadá y se colocó una lámina cubreobjetos para conservación de la muestra y una mejor observación.